ZOE™ 蛍光セルイメージャー

取扱説明書

カタログ番号　145-0031J1

注 意

・製品をご使用になる前に、本取扱説明書をよくお読みください。
・本書の注意事項は必ずお守りください。
・本取扱説明書は、必要な時にすぐに取り出して読めるように大切に保管してください。

BIO-RAD

バイオ・ラッド テックコール
製品の学術的お問い合わせ並びに修理・メンテナンスに関するお問い合わせは弊社テックコールにお問い合わせください。
受付時間：月曜日～金曜日（祝祭日を除く）
AM9:00～PM5:00（日本標準時：JST）
電話: 03-6404-0331
Fax: 03-6404-0334
Email: life_ps_jp@bio-rad.com
以下の Web でオンラインでのテクニカルサポート並びに製品情報等をご参照頂けます。
Web：www.bio-rad.com.

Trademarks and Legal Notices
Android™はGoogle Incの商標です。
Adobe、Acrobat は、Adobe Systems Incorporated（アドビシステムズ社）の商標です。
ReadiLinkはAAT Bioquest Incの商標です。TritonはDow Chemical Companyの商標です。

その他、 本マニュアルに記載の社名および商品名は、 各社の商標または登録商標です。

Copyright
Copyright©2014 Bio-Rad Laboratories, Inc. 本書の内容は、印刷または電子形態などのいかなる形式によっても、バイオ・ラッド・ラボラトリー株式会社の書面による許可なしに複製することを禁じます。
マニュアルの内容は予告なしに変更されることがあります。また、本マニュアルに誤記や不正確な記述があった場合、バイオ・ラッドラボラトリーズはいかなる責任も負いません。

ZOE™ 蛍光セルイメージャー

取扱説明書

Ver. 1.1

BIO-RAD

バイオ・ラッド ラボラトリーズの情報サービス

弊社では科学研究者を対象として多くの資料等情報をご提供しております。以下に示すウェブサイトでは実験に有益な情報を提供しております。

- Life Science Research web site　　http://www.bio-rad.com

このウェブサイトでは、技術的な情報、取扱説明書、製品情報、技術サポートなどの情報へアクセスして頂けます。さらに、製品に関連する実験手法と多様なアプリケーションに関する技術情報もご提供しています。

表 1 に、弊社が提供する情報サービスと情報の入手方法を示します。

表 1. バイオ・ラッド社の技術情報サービス

リソース	問い合わせ方法
各地域での弊社営業所	弊社ウェブサイト(www.bio-rad.com)から住んでいる国を選択して、地域の情報を確認します。または本取扱説明書巻末のリストから、最寄りの営業所を探してください。
技術参考資料や文献	弊社ウェブサイト(www.bio-rad.com)にアクセスしてください。検索ボックスにキーワードを入力し、ドキュメント(Documents)を選択して技術情報、取扱説明書、その他の必要な参考資料へのリンクを表示します。
技術専門要員(テックコール)	弊社では、高品質の技術サポート体制を整えています。また、技術サポート部門に経験豊富なスタッフを配置しており、お客様のお問い合わせに対応して、実践的で専門的な解決方法をご提供いたします。 技術サポートをご希望の場合は、弊社テックコールへご連絡ください。テックコールの連絡先は本書「バイオ・ラッド　テックコール」の項目をご参照ください。

この取扱説明書について

本書は ZOE 蛍光セルイメージャーを安全に設置し、操作する方法をご案内するものです。該当する情報を速やかに提供するため、本書では下表に記載された表記法が使われています。

表 2. 本取扱説明書に使用される専用表記

表記	説明
参考情報:	本書でさらに詳しい説明を加える場合などで有益となる情報や取扱方法などが記載されます。
注意:	本書でさらに詳しい説明を加える場合などで重要となる情報が記載されます。
警告！	使用者への傷害、機器への傷害、データ消失の原因などに関連した事項であり、重大な情報が記載されます。
X 項目＞Y 項目	ツールバー、メニューまたはソフトウェアウインドウから X 項目を選択し、次に Y 項目を選択することを示します。

本書および製品で使用される安全使用の表示マークについては、iv ページの「製品を安全性ご使用いただくために」を参照してください。

保証

本製品とその付属品における不具合については 1 年間保証いたします。保証期間中に本体あるいは付属品に不具合が発見された場合、不具合のある部品の修理を無償にて行います。ただし、消耗品は保証対象外となります。

下記の場合は保証対象外となります。

1. 適切でない使用方法による故障
2. 弊社あるいは弊社が認定した者以外が、修理あるいは改造を行った場合
3. 指定以外の部品を使用したために起きた故障
4. 弊社以外から供給された部品等を使用した場合
5. 事故あるいは間違った使用方法によって生じた故障
6. 天災による故障
7. サンプルなどによって生じた腐蝕

保証期間内であっても、再度の納品検収、移動設置、製品点検については有償となります。保証期間外でも修理によって機能が維持できる場合には有償にて修理を承ります。

修理の依頼およびお問い合わせは、機器のモデル名とシリアルナンバーを添えてお近くの弊社営業所あるいは弊社販売代理店までお願いいたします。

この機器の使用目的に合わない状態での使用や、弊社あるいは弊社指定の者以外による改造によって怪我あるいは災害にあわれた場合、弊社では一切の責任を負いません。
保証内容の詳細については、製品付属の製品保証書をご参照ください。

保証登録

保証サービスをお受けいただく際には登録が必要になります。必ず保証書に必要事項を記入の上、弊社へ FAX 頂くか以下のウェブサイトからご登録をお願いいたします。

http://warranty-registration.bio-rad.co.jp/registration.htm

製品保証書は修理時などに必要になりますので、大切に保管してください。

修理依頼について

修理をご依頼される際には修理品と一緒に不具合詳細を記載する「修理依頼書」と運搬者や作業者の安全を確保するための「デコンタミネーション確認のお願い」をコピーして、ご記入の上、修理品と一緒に弊社販売代理店へお引き渡し下さい。両書類は本書 Appendix3 および4に掲載されています。

製品を安全にご使用いただくために

はじめに

バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社　ライフサイエンス事業部が販売している製品はすべて研究用途を目的として販売しております。医療用・医療診断機器ではありません。研究用途以外では使用しないでください。

製品の仕様・外観は改良のため予告なしに変更されることがありますので、予めご了承願います。

安全確保のための警告表示

本書の「**警告!**」表示は、感電の危険性といった傷害または損害の原因について警告するものです。

安全にご使用頂くための注意事項

警告！ZOE 蛍光セルイメージャーや他の付属品の外側ケースを取り外そうとしたり修理しようとしたりしないでください。本装置の外部ケースを開けると、感電によって負傷したり、装置が損傷したりする危険性があります。

本装置は、試験の結果、以下に示す安全規格と適合性基準の該当するすべての要求事項に適合していることが確認されています。

本装置をご使用の際には安全のため、表 3 の動作環境条件を順守してご使用ください。

表 3:ZOE 蛍光セルイメージャーを安全にご使用いただくための動作環境条件

過渡的過電圧カテゴリ	設置カテゴリ II
動作電源	100～240 VAC
周波数	50/60 Hz
電気入力	24 V DC、100W
設置場所	屋内使用のみ
使用温度	10～31° C
最大相対湿度	20～80% （但し、結露がないこと）
高度	< 2,000 m
汚染	2
保護等級	IPX0

注意:本ユニットを水がかかる可能性のある場所に保管したり、使用したりしないでください。感電の原因となることがあります。

本装置は重量があるため、実験台の端で保管したり、操作したりしないでください。また、使用中は、必ず装置をを垂直状態を維持してください。

機器の温度が機器周辺空気の露点温度以下になると機器表面に結露が発生します。低温環境から高温環境へ祖機器を移動させた場合は、機器が露点を超える温度で平衡状態になってから操作を開始してください。

サンプルステージにサンプルを載せたときの機器の転倒に注意してください。転倒によって ZOE 蛍光セルイメジャーの光学及び電気系統にサンプルが誤って漏出する可能性があり、感電または本体操作不能の原因となります。

モーター駆動ステージの移動による負傷を避けるため、機器本体の電源が入っているときにはステージの開口部に指を入れないでください。

液晶ディスプレイ画面は角度を調節できます。画面を傾ける際には、画面裏側の可動部に指を挟まないようにご注意ください。傷することがあります。

ZOE 蛍光セルイメージャーは工場出荷時点ですでにキャリブレーションされているため、追加の調整は必要ありません。
ZOE 蛍光セルイメジャーを PC に接続しないでください。製品本体の OS が使用できなることがあります。

安全規格への順守

本装置は、試験の結果、以下に示す安全規格と電磁両立性規格の該当するすべての要求事項に適合していることが確認されています。

- EN61010-1:2010 -計測、制御および実験室用電気機器
- UL Std No. 61010-1:2010 -計測、制御および実験室用電気機器－第 1 部:一般要求事項
- CAN/CSA C22.2 No. 61010-1-12 -計測、制御、および実験室用電気機器の安全要求事項－第 1 部:一般要求事項
- IEC61010-1:200 -計測、制御及び実験室用電気機器の安全要求事項-第 1 部:一般要求事項
- IEC 62471－ランプおよびランプシステムの光生物学的安全性
- EN 62471－ランプおよびランプシステムの光生物学的安全性

電磁両立性(EMC)

- F.C.C.タイトル 47 パート 15B(クラス A デジタル機器として)
- IEC/EN61326-1 －計測、制御、および実験室用クラス A 電気機器－一般要求事項

FCC の警告と注意

- **警告:**適合性に対して責任を負う関係者が明示的に承認していない変更または改造を本装置に加えた場合、本装置を使用するユーザーの権限が無効になることがあります。
- **注意:**本装置は、FCC 規則パート 15 に従って試験した結果、クラス A デジタル機器の規制に適合していることが確認されています。これらの規制は、商業的環境で本装置を使用した場合に、有害な妨害を引き起こさないようにするための十分な保護を規定することを目的としたものです。本装置は、無線周波数エネルギーを生成および使用しており、このようなエネルギーを放射する可能性があります。この取扱説明書に従って設置および使用しないと、無線通信に有害な妨害を引き起こすことがあります。住宅地域で本装置を使用すると、有害な妨害を引き起こすことがあります。このような場合、ユーザーは自費でこの妨害の対策を講じなければなりません。
- **FCC への適合性に関する注意:**本装置の設計は、試験の結果、クラス A デジタル機器に関する FCC 規則パート 15 サブパート B に適合していることが確認されていますが、製造時に実施されている前述の FCC 規則については、47 CFR 15.103(c)で本装置が「適用除外機器」と見なされているため、この適合性は任意となることに注意してください。
- **カナダ EMC 準拠に関する注意:**本デジタル機器は、カナダ通信省の電波障害規制に定められたデジタル機器の無線雑音放出に対するクラス A 制限に適合しています。

バイオ・ラッド社製の装置は、EN61010*安全規格と、EN61326(クラス A)安全規格の EMC 要求事項に適合するように設計されており、これらの規格の認証を取得しています。認証された製品は、取扱説明書に従って使用する場合、安全に使用することができます。どのような方法であっても、本装置を変更または改造しないでください。

本装置を改造すると、以下のような結果が生じることになります。

- メーカー保証が無効になる
- EN61010 安全認証が無効になる
- 安全上の問題が発生する可能性がある

* EN61010 は、実験室用機器について国際的に承認されている電気安全規格です。

バイオ・ラッド ラボラトリーズは、本来の用途以外で本装置を使用したり、バイオ・ラッド ラボラトリーズまたは弊社が認定した者以外が本装置の変更を行ったりした結果、負傷あるいは損害が発生しても、一切の責任を負いません。

当社は、このセクションと本書全体に記載されている安全仕様に従うことをお勧めします。本装置に付属の電源コード以外は使用しないでください。また、必ず、地域の電気コンセントに対応したプラグアダプターを選択していることを確認してください。

目次

バイオ・ラッド ラボラトリーズの情報サービス ii
保証 iii
安全にご使用頂くための注意事項 iv
第 1 章－はじめに 7
装置の概要 9
グラフィカル・ユーザー・インターフェース(GUI) 10
仕　様 10
第 2 章－ZOE™蛍光セルイメージャーのセットアップ 12
第 3 章－細胞を観察/画像撮影をする 16
Position モード 17
Live モード 18
モーター駆動式ステージと視野 18
ステージロック機能 19
明視野チャンネルを使用する 20
蛍光チャンネルを使用する 23
画像撮影 25
Gallery モード 25
撮影した画像を表示する 25
Image management 30
Merge モード 31
多色重ね合わせ用画像を撮影する 33
第 4 章－保守とトラブルシューティング 35
ZOE セルイメージャーを清掃する 36
バッテリー 37
第 5 章－ソフトウェアに関する通知および条項 38
ソフトウェアに関する通知および条項(Software Notices and Terms) 39
第 6 章－セルイメージャー関連試薬 41
PureBlu™　DAPI Nuclear Staining Dye　取扱説明書 42
PureBlu™　Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye　取扱説明書 44
ReadiLink Antibody Labeling Kit　取扱説明書 46
VivaFix™ Cell Viability Assay　取扱説明書 48
CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit　取扱説明書 50
Appendix 52
Appendix 1: Ordering Information 53
Appendix 2:　検出可能な蛍光物質例 54
Appendix 3:　デジタルズームと保存画像サイズ 55
Appendix 4:　修理依頼書 56
Appendix 5:　デコンタミネーション確認のお願い 57

第 1 章－はじめに

はじめに

ZOE 蛍光セルイメージャーは、明視野と3つの蛍光チャンネル（青色、緑色および赤色蛍光）に対応した倒立型のイメージングシステムで、ルーチンの細胞培養や細胞イメージングに適しています。すべての検出チャンネルが完全に統合され、最も一般的な蛍光タンパク質や蛍光色素に最適化されており、キャリブレーションや特別な据え付け調整作業は必要ありません。本機はスタンドアローン型の機器であり、制御・操作用の PC は必要ありません。

直観的に操作できるタッチスクリーンによって細胞を観察し、内蔵の CMOS（相補性金属酸化膜半導体）カメラで細胞等の画像を撮影することができます。内部メモリに保存された画像を編集したり、重ね合わせて多色合成したり、2つある USB ポートの一方から USB メモリーにエクスポートしたりできます。遮光板を備えているため暗室は不要です。研究者が細胞を取り扱う実験台の環境光下で蛍光撮影が可能です。スクリーンのチルト角度は使用者の体格や姿勢に合わせて簡単に調節することができます。

各 LED 光源は、電源を入れると即座に使用でき、平均 1 万時間以上にわたって安定して照明します。LED は発熱がなく、均一の連続的な照明を実現します。サンプルの光退色を低減するために LED 輝度を調節することができます。

フォーカス（ピント合わせ）は、本体側面の粗動/微動フォーカスノブで手動調節します。ノブの位置はフォーカス調整をする手の負担が最小限になるように人間工学に則って設計されています。

ZOE セルイメージャーの 20X 対物レンズはマウントに独自の技術を採用し、実視野の広さは 4X 対物レンズ（0.70 mm^2）に匹敵します。「ピンチトゥーズーム」ジェスチャーにより、解像度を 1 µm に保ったまま速やかに表示倍率を変更することができます。

広い視野とモーター駆動ステージ（最大可動範囲 6 mm）を備え、サンプルの広い範囲をすばやく観察することができます。この特長は、トランスフェクション効率や細胞培養密度の評価に有用です。ステージの移動方向と速度はタッチスクリーンで制御します。

図 1：ZOE 蛍光セルイメージャーの各部名称

装置の概要

ZOE 蛍光セルイメージャーの前面（図1）には以下のものが装備されています。

- **スクリーン**－10.1 インチ 高解像度カラー液晶タッチスクリーン、アンチグレア（反射低減）およびアンチフィンガープリント（耐指紋）処理加工；スクリーンの角度は調節可能であり、最適な画像観察を提供します。
- **遮光板**－環境光下で蛍光チャンネルを使用できます。
- **サンプルステージ**－本体ベース上部に配置され、一般に使用されているあらゆる細胞培養容器に十分に対応可能なサイズです。
- **対物レンズ用開口部**－ステージの中央、開口部の真下に対物レンズがあります。
- **前面 USB ポート***－USB メモリーもしくは USB マウスを接続できます。

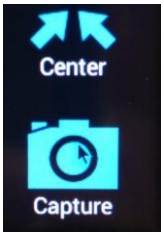
本体右面（図1）には以下のものが装備されています。

- **電源スイッチ**－数秒長押しすることにより装置の電源を投入または切断します。
- **フォーカスノブ**－手動で画像焦点を調節できます。外側のノブが粗動用、内側のノブが微動用です。

本体左側には以下のものが装備されています。

- **フォーカスノブ**－手動で画像焦点を調節できます。外側のノブが粗動焦点調節用、内側のノブが微動焦点調節用です。

本体背面（図1右上挿入図）には以下のものが装備されています。



- **HDMI ポート** - HDMI ケーブルで TV やプロジェクターに ZOE の画面を表示することができます。
- **USB ポート*** － USB メモリーもしくは USB マウスを接続できます。（右図参照）
- **サービスポート** -修理時に弊社サービススタッフが使用します。通常は何も接続しないでください。
- **電源入力端子** － 付属の電源コードを使用して本機を電源コンセントに接続します。

注意:電源コードは常にフラットな面を下にします。ロック機構の動作を妨げないように電源入力端子に差し込んでください。取り外しの際には、ロック機構を手前に引いてロックを解除します。ロック機構を解除せずにケーブルを引っ張ると、装置が損傷するおそれがあります。

注意*:ZOE 蛍光セルイメージャーの前面並びに背面の USB(A)ポートには USB メモリーもしくは USB マウス以外のデバイスは接続しないでください。キーボードなどのサポート対象外の USB デバイスを接続した場合、本体がフリーズするなどの症状がでることがあります。

グラフィカル・ユーザー・インターフェース(GUI)

タッチスクリーン右側から以下の4つの機能コマンドを実行します。

アイコン	モード名称	解説
	Position	サンプル観察・撮影のために観察領域を選択します。容器の全体像が液晶画面に表示され、容器を手で動かして、観察する領域を対物レンズ上に移動します。画面上には対物レンズの真上に十字線が表示されています(16 ページ 図2)。
	Live	明視野(図 4)または3蛍光チャンネルのいずれかを用いてサンプルを観察します。画像撮影時にこのモードを使用します。
	Gallery	内部メモリに保存されている撮影済みの画像表示または画像のエクスポートをします。
	Merge	重ね合わせによる多色合成画像を作成します

仕 様

ZOE 蛍光セルイメジャーの仕様は表1のとおりです。

表1. ZOE 蛍光セルイメージャー仕様

カラーチャンネル	明視野*と蛍光3チャンネル(青、緑、赤)
光源	青色チャンネル用 UV LED 緑色チャンネル用青色 LED 赤色チャンネル用緑色 LED
励起	青色チャンネル 355/40 nm 緑色チャンネル 480/17 nm 赤色チャンネル 556/20 nm
蛍光	青色チャンネル 433/36 mm 緑色チャンネル 517/23 nm 赤色チャンネル 615/61 nm
開口数(N.A)	0.40
作動距離(W.D.)	7 mm

対物レンズ	20 倍プランアクロマートレンズ
光学表示倍率	175 倍
デジタルズーム時表示倍率	700 倍（デジタルズーム 4 倍）
モーター駆動式ステージ	X、Y方向の最大可動範囲 6 mm、移動速度および方向はタッチスクリーン連動。
実視野	0.70 mm^2
カメラ	モノクロ 12 ビット CMOS 5メガピクセル
画像ファイル形式	JPEG、TIFF、RAW
内部メモリ	16 GB
フォーカス	粗微動焦点調節ノブによる手動調節
スタンドアローン機能	可
液晶モニター	10.1 インチ カラータッチスクリーン液晶、アンチグレア(反射低減)およびアンチフィンガープリント（耐指紋）加工、 画像解像度 1,280×768 ピクセル、傾斜角度 80～180 度
出力ポート	USB2.0 ポート×２
寸法(W x H x D)	33 × 30 × 32 cm (液晶直立時: 33 × 45 × 32 cm)
重量	9 kg

*明視野チャンネルは緑色 LED で照射され、色収差の低減により画像コントラストの向上が図られています。この緑色光源による蛍光退色は通常の白色光で発生するものと同程度です。

注意：ユーザーインターフェースにおける各蛍光チャンネルの色別は（励起光源色ではなく）蛍光色（青、緑、赤）で表示されています。

システムの構成部品

本装置（カタログ番号 145-0031J1）は以下の部品で構成されています。

- ZOE 蛍光セルイメージャー
- 電源コード
- USB メモリー
- 取扱説明書
- クイックガイド

システムの開梱

1. ZOE 蛍光セルイメージャーを丁寧に箱から取り出します。梱包材はすべて取り外し、今後も使用できるよう保管しておきます。輸送中に装置が損傷を受けていないかどうかを入念に点検してください。上記に記載した付属品を含め、本装置のすべての部品が揃っていることを確認します。欠品、破損がありましたら、バイオ・ラッドまでご連絡ください。
2. ZOE セルイメージャーを直立させて乾いた水平な台の上に置きます。
3. ZOE セルイメジャーは遮光板を備えているため、環境光下で使用することができます。したがって、暗室は不要です。ただし、直射日光下では使用しないでください。
4. 付属の電源コードを装置本体に接続します。このとき、電源コードのフラット面を下に向けて、ロック機構の動作を妨げないように配線してください。

注意：電源コードを取り外すときには、ロック機構を手前に引いてケーブルを解除します。ロック機構を解除せずにケーブルを引っ張ると、装置が損傷するおそれがあります。

5. 電源コードを適切な電源コンセントに差し込み、装置の電源を入れます。起動画面が表示されます。一連の読み込みが完了すると、Position モードが画面に表示されます。

注意：電源オフボタンを押して電源を切っても、装置は完全にはシャットオフしていません。電源を完全に遮断する場合は電源コードをコンセントから抜いてください。

第 2 章－ZOE™蛍光セルイメージャーのセットアップ

ZOE 蛍光セルイメージャーのセットアップ（初期設定）

タッチスクリーンのメニューはカスタマイズ可能です。初期設定を変更するには、画面の左上隅にある アイコン（図2）をタップし、Settings を選択します。

1. Settings ウィンドウが開きますので、変更したいオプションをタップします。
2. 必要な変更を加えたのち、 をタップして終了します。

以下のメニューオプションの変更ができます。

項目	設定内容
Camera	Live モードでの撮影初期設定値を設定できます。
Preferences	画像保存形式、スケールバー設定などを初期設定ができます。
Date & Time	日時の設定ができます。
System	システムバージョン情報表示やシステム診断ができます。

Camera

Gain（検出器感度）、Exposure time（露光時間）、LED intensity（光源輝度）および Contrast（コントラスト）を各検出チャンネルごとに初期設定値を変更できます。新しい設定値を有効にするには、装置の電源を切って再投入する必要があります。

設定範囲は以下の表をご参照ください。

検出チャンネル	設定項目	設定範囲	工場出荷時設定値
Bright Field (明視野)	Gain	1～152	8
	Exposure time（ミリ秒）	1～1000	300
	LED Intensity	1～100	40
	Contrast	1～100	0
蛍光チャンネル (青/緑/赤)	Gain	1～152	40
	Exposure time（ミリ秒）	1～1000	500
	LED Intensity	1～100	50
	Contrast	1～100	0

Preferences

以下のオプションの設定を変更できます。

項目	内容
Image file format	撮影画像のファイル形式を選択することができます。初期設定では撮影画像はJPEG形式で保存されます。その他の保存形式としてTIFFおよびRAWがありますが、これらの形式のファイルはサイズが大きいため、オペレーティングシステムの動作が遅くなります。
Image file name	撮影画像のファイル名形式を選択することができます。デフォルトのファイル名形式は *Color_Serial number_Time stamp* です。また、*Color_Prefix_Time stamp* を選択するとカスタムプレフィックス(例、Hela)を使用できます。
Add scale bar to captured image	撮影画像にスケールバーを挿入する設定を選択できます。Yes をタップすると撮影画像にスケールバーを挿入します。本機能を無効にするには No をタップします。
Attach single color images to merge	重ね合わせ画像をエクスポート時に単色画像を一緒にエクスポートする設定を選択できます。Yes をタップして元となる単色画像をマージファイルとともにエクスポートします。USBメモリーへのエクスポート中に本機能を解除するには No をタップします。
Automatically export image files to USB disk	撮影時に接続されているUSBメモリーに自動的に画像をエクスポートする設定ができます。画像は USB メモリーと内部メモリの両者に保存されます。
Sleep	ZOE がスリープモードに入るまでの時間を 5 分、10 分、30 分から選択できます。スリープモードでは、省電力化のためにいくつかの機能はオフになります。画面タッチ後 20 秒以内に ZOE セルイメージャーがスリープモードから完全に復帰します。

Date and Time

内部メモリに保存されている画像を特定するには、日付／時刻スタンプを使用します。装置を使用する前にあらかじめ日時を設定しておく必要があります。のちに日付／時刻を再設定しても、再設定前に保存した画像には影響しません。

項目	内容
Set date	日付の設定ができます。
Set time	時間の設定ができます。
Use 24-hour format	24 時間表示するかどうか選択できます。
Select date format	日付表示方式の選択(① MM/dd/YYYY ② dd/MM/YYYY ③YYYY/MM/dd)をすることができます。
Show clock	Position モード時に左下に時間と日付を表示します。

System

このメニューオプションでは以下の情報を利用できます。

項目	内容
Legal information	法律関係の情報
Android version	Android のバージョン情報
Kernel version	カーネルのバージョン情報
Vision board driver version	画像処理基板のバージョン情報
Driver board firmware version	ドライバ基板のファームウェアバージョン情報
ZOE Cell imager software version	ZOE ソフトウェアのバージョン情報
Available storage space	空き容量表示
Firmware update	ファームウェアのアップデート
System diagnostic test	システム診断テスト。約 30 秒の自己診断テストが実施できます。
Enable Service Mode	修理時に弊社スタッフが使用します。

Firmware update

ファームウェアをアップデートする手順は以下のとおりです。

1. ファームウェア更新ファイルが入っている USB フラッシュドライブを USB ポートに差し込みます。なお、ファームウェアファイルは必ず USB メモリーのルートディレクトリに保存してください。
2. Settings メニューの System オプションから Firmware update をタップします。
3. 装置がファームウェアファイルを認識し、検証テストが完了すると、アップデートを開始します。

注意:ファームウェアファイルが入った USB キーが接続されていない場合、接続を促すメッセージが表示されます。更新ファイルがルートディレクトリに保存されていない場合、「No update file present(更新ファイルがありません)」というメッセージが表示されます。

4. Enter をタップし、アップデートを継続します。
5. アップデートが正常に完了すると、ZOE セルイメージャーが自動的に再起動します。

注意:更新ファイルは次の3種類があります: Vision board driver(画像処理基板用ドライバ)のアップデート、Driver board firmware(ドライバ基板用ファームウェア)および ZOE cell imager software。Vision board driverとZOE cell imager softwareを同時にアップデートする場合は、最初に Vision board driver のアップデートが行われます。これが完了すると自動的に再起動しますので、上記の手順2～5を再度行って ZOE cell imager software を更新します。

第 3 章－細胞を観察/画像撮影をする

細胞を観察/画像撮影をする

Position、Live、Gallery または Merge 機能を使用するには、タッチスクリーンの右側にある適切なアイコン(図2)をタップします。

Position モード

装置の電源を入れると自動的に Position モードになります。タッチスクリーンにステージの上面画像が表示されます。赤色の十字線が対物レンズの位置を示し(図2)、これが実際の撮影ポイントとなります。**Center** アイコンをタップすると、いつでもサンプルステージがホームポジション(X, Y; 0, 0)に戻ります。

注意: サンプルを観察しているときにステージを中央に戻すと、サンプルの観察位置が変わります。異なるサンプル部位から撮影した画像が誤って重ね合わされるのを防ぐため、ステージを中央に移動させるたびに重ね合わせ(多色画像)用にあらかじめ選択したすべての画像の選択が解除されます。

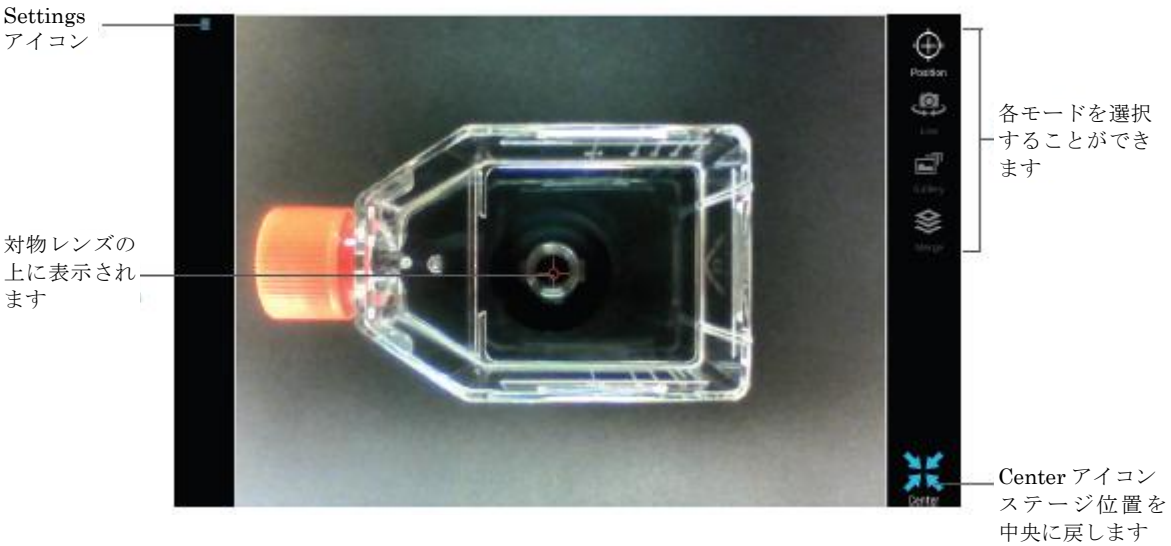


図2. ZOE 蛍光セルイメージャー 電源投入時のタッチスクリーン表示。 白いアイコンは本機が Position モードにあることを示しており、その他のモードはグレー表示となります。

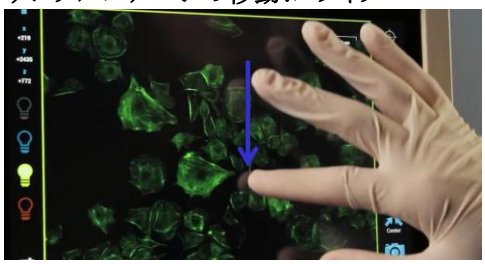
Live モード

Live 機能は4チャンネル（明視野チャンネルまたは蛍光3チャンネル）のいずれかで照射されたサンプルを観察し、細胞の画像撮影するときに使用します。

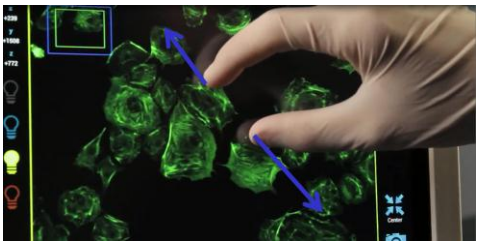
モーター駆動式ステージと視野

ZOE セルイメージャーのモーター駆動式ステージは最大 6 mm の可動範囲があり、サンプルの広い範囲をすばやく観察することができます。ステージの移動方向および速度はタッチスクリーンと連動して制御され、ピンチトゥーズームジェスチャーで簡単に画面を拡大・縮小することができます。ステージの移動に伴いXおよびY座標値（図4）が新しい座標値に更新されます。ステージをホームポジション（X, Y; 0, 0）に戻すときには、Center アイコン（図4）を使用します。

サンプルステージの移動：スワイプ



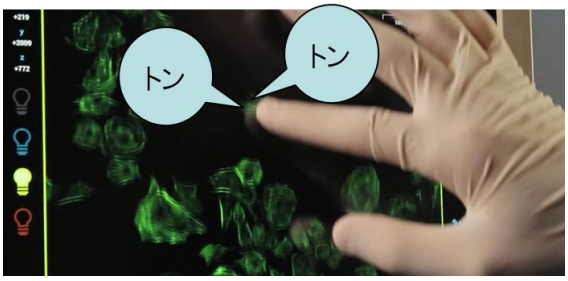
デジタルズーム：ピンチ



サンプルステージを移動する場合には上図左のように画面上を押しながら移動する方向へ指を動かす「スワイプ」ジェスチャーを行います。また詳細を確認するためズームをする場合には 2 本指で画面にタッチして指を広げる「ピンチ」ジェスチャーを行います。

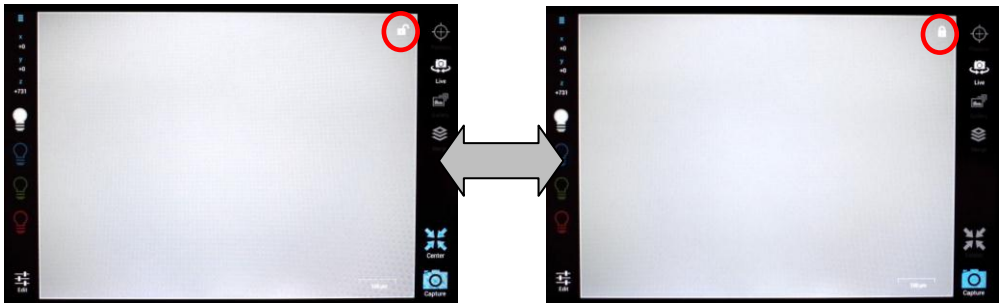
注意：ピンチジェスチャーでズームした場合には、スワイプで移動できるのは画面左上に表示される範囲のみです（ステージは移動しません）。ステージを移動して視野を大きく移動するには、一度画面を「**ダブルタップ**」してズームを解除してから、スワイプしてステージを移動します。

ズームの解除：ダブルタップ



ステージロック機能

複数チャンネル画像を重ね合わせ（Merge）するには同じ視野で同じズーム倍率であることが必要です。ステージロック機能はLiveモード右上の鍵アイコンをタップすることでステージとズームをロックする機能です。この機能を使用すると異なる視野の画像を誤って重ね合わせることを防ぐことができます。



ステージロックアイコンと状態

アイコン	状態	内容
	アンロック	標準の状態。サンプルステージはスワイプによるステージ移動、ピンチによるズームが可能です。
	ロック	重ね合わせ画像をより確実に作成するために、この状態ではサンプルステージの移動・ズームはできません。

明視野チャンネルを使用する

画面左側のコントロールパネルには、各チャンネルの光源をオン／オフするアイコンがあります（図4）。画像コントラストを改善するため、明視野チャンネルでは緑色リング LED を光源として使用します。ZOE はモノクロカメラを使用しており、明視野画像は白黒で表示されます。

LED 光源をオンにするには**光源アイコン**（図3）をタップします。再度タップするとオフに切り替わります。

注意：この緑色光源による蛍光退色は通常の白色光で発生するものと同程度です。

図3. 明視野チャンネルの光源のオン／オフ

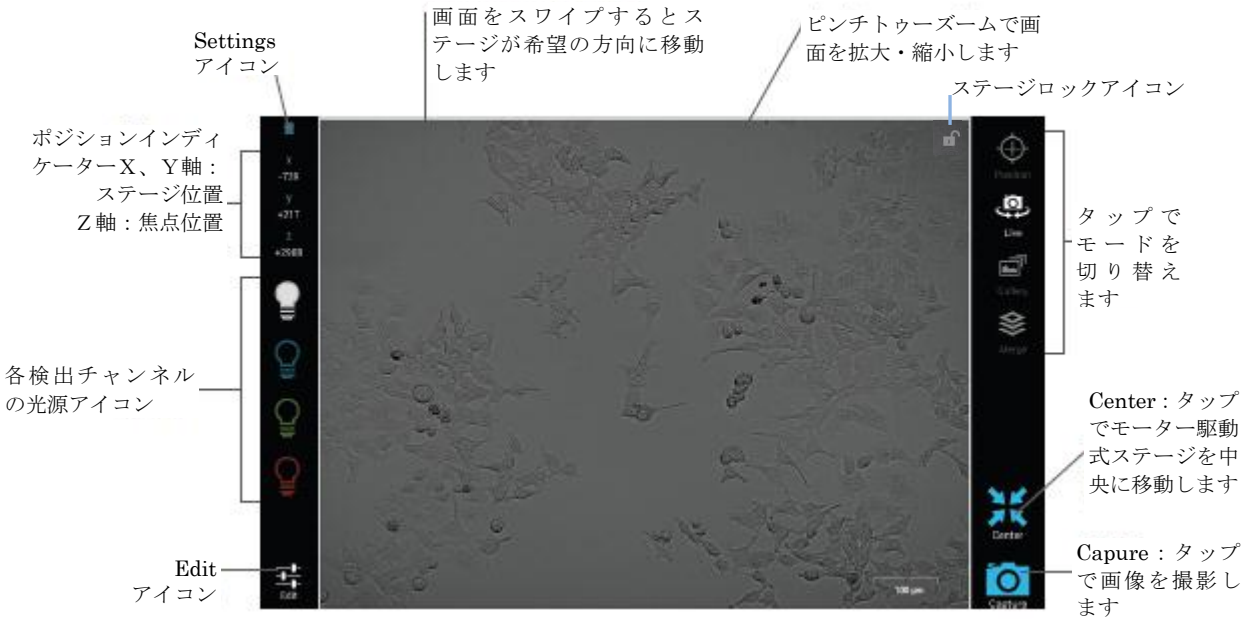


図4. Live モードで使用できる各種機能

フォーカス タッチスクリーン左側のポジションインジケーターにZ軸位置の数値が表示されます。この数値はフォーカス調節時に現在の位置を表示します（図4）。培養容器のZ軸位置の概数（表2）を参考に、素早く焦点を合わせることができます。

表2. 各種組織培養容器のZ軸位置の範囲

容器のタイプ	Z軸位置
顕微鏡スライド	720 (± 100)
6ウェルプレート	2,000 (± 100)
12 ウェルプレート	2,100 (± 100)
24 ウェルプレート	1,900 (± 100)
48 ウェルプレート	2,000 (± 100)
96 ウェルプレート	3,500 (± 200)
T25 フラスコ	1,800 (± 200)
T75 フラスコ	2,500 (± 200)
T225 組織培養フラスコ	3,200 (± 200)
シャーレ（小）	1,200 (± 200)
シャーレ（大）	1,100 (± 200)

明視野チャンネルの撮影パラメータを最適化する

Edit アイコンから撮影設定（図5）を調節することができます：Gain、Exposure（ミリ秒）、LED intensity、Contrast、および LED の 4 分割照明の選択。任意のパラメータを調節するにはスライダーバーをドラッグします。微調整したい場合は、各スライダーバーの両端にある「－」または「＋」をタップします。

- **観察したいサンプル位置を探すとき**－Gain 値を大きくし、明るい画像を取得します。Exposure の時間を短く設定し、フレームレートを速くします。
- **サンプル位置特定後、画像撮影するとき**－Gain 値を下げてバックグラウンドノイズを軽減します。Exposure の時間を長くし、画像を明るくします。
- **さらに画像を明るくしたいとき**－最初に LED Intensity 値を大きくし、それでも足りない場合は Exposure の時間を長く設定します。
- **非特異的なバックグラウンドノイズを軽減したいとき**－Contrast 値を大きくします。

図5. 明視野チャンネルの Edit メニュー

明視野(Brightfeild)の Edit メニューの設定値

設定項目	標準設定	設定範囲	刻み
Quadrants	Q1-Q4	-	-
Gain	8	1～152	1
Exposure time	300	0～500	20
LED intensity	40	1～100	1
Contrast	0	0～100	1

明視野チャンネルの画像コントラストを改善する(斜光照明)
明視野チャンネルでは緑色 LED のリングを光源として使用します。緑色光源を用いることによって色収差が低減され、白色光に比べてコントラストの高い画像が得られます。

明視野チャンネルの Edit メニューの最上部にある **Q1、Q2、Q3、Q4 のチェックボックス**(図5)により、4分割リング LED の各 4 箇所のオン／オフを個別に切り替えることができます。本機能により位相差様の高いコントラスト画像が得られます。単一 LED のみを照明すると光の照射方向が変わり、斜光照明が可能となります。最高の撮影条件が得られる箇所のオン／オフの組み合わせはサンプルにより異なります。

1. チェックマークをタップ操作して3つの象限をオフにし、残るLEDで光を照射します(たとえば、Q1、Q2、Q4 をオフ、Q3 をオンにする)。
   注意:2つの LED をオンにする場合、Q1 と Q2 または Q3 と Q4 のように隣接する LED を選択してください。
2. 撮影画面が著しく暗くなります。Gain を上げ、オフにした LED の光量低減を補正します。
3. 必要に応じて、Contrast を上げます。
4. 特定のサンプルでは、他の LED の使用により、さらに高品質の画像が得られるかどうかを確認します。
5. 変更を適用するには **Apply** をタップします。**Cancel** を選択すると、変更を保存せずにこの設定画面を閉じます。

斜光照明時の推奨設定(Q についてはサンプルに合わせて各 Q を試します)

設定値	設定1	設定 2
Quadrants(Q1/Q2/Q3/Q4)	Start with Q2	Start with Q2
Gain(1～152)	15	20
Exposure time(0～5000)	400	300
LED intensity(1～100)	80	75
Contrast(0～100)	35	20

蛍光チャンネルを使用する

ZOE セルイメージャーには3つの蛍光チャンネル(青色、緑色および赤色)があります。チャンネル名称は(励起光源の色ではなく)蛍光波長の色で呼称されています。

画面左側のコントロールパネル(図4)で、個々の検出チャンネルで使用する光源のオン／オフを切り替えられます。オンにした光源で励起したサンプルが画面に表示されます。表示される画像は適切な蛍光波長色で擬似カラー表示されます(図8)。光源アイコン(図6)をタップし、LED 光源をオンにします。再度タップするとオフに切り替わります。

図6. 光源のオン／オフ切替。A:青色チャンネル光源のオン／オフ **B:**緑色チャンネル光源のオン／オフ **C:**赤色チャンネル光源のオン／オフ

フォーカスータッチスクリーン左側のポジションインジケーターにZ軸位置の数値が表示されます。この数値はフォーカス調節時に現在の位置を表示します(図4)。培養容器のZ軸位置の概数(表2)を参考に、素早く焦点を合わせることができます。

蛍光イメージングの撮影パラメータを最適化する

Edit メニューから以下の各設定条件(図7)を調節することができます:Gain(検出器感度)、LED intensity(光源輝度)、Contrast(コントラスト)、Exposure(露光時間:ミリ秒)および明視野リング LED の照明。任意の設定条件を調節するにはスライダーバーをドラッグします。微調整したい場合は、各スライダーバーの両端にある「－」または「＋」をタップします。

- **観察したい細胞を探すとき**－Gain 値を大きくし、明るい画像を取得します。Exposure の時間を短く設定し、フレームレートを速くします。
- **サンプル特定後、すぐに画像撮影するとき**－Gain 値を下げてバックグラウンドノイズを軽減します。Gain を下げると画像が暗くなりますので、Exposure の時間を長く設定し、画像を再び明るくします。
- **さらに明るくしたいとき**－最初に LED Intensity 値を大きくし、それでも足りない場合は Exposure の時間を長く設定します。

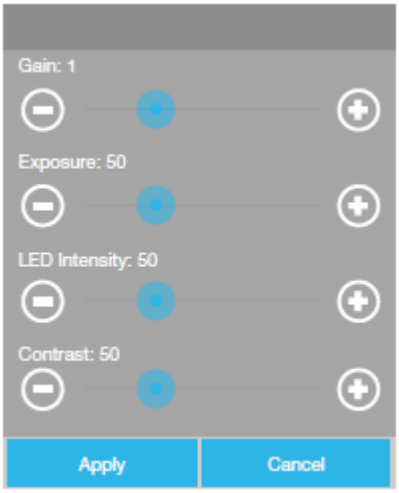


図7. 蛍光チャンネルの Edit メニュー

蛍光チャンネルの Edit メニュー設定

設定項目	標準設定	設定範囲	刻み
Gain	40	1～152	1
Exposure time	500	0～500	20
LED intensity	50	1～100	1
Contrast	0	0～100	1

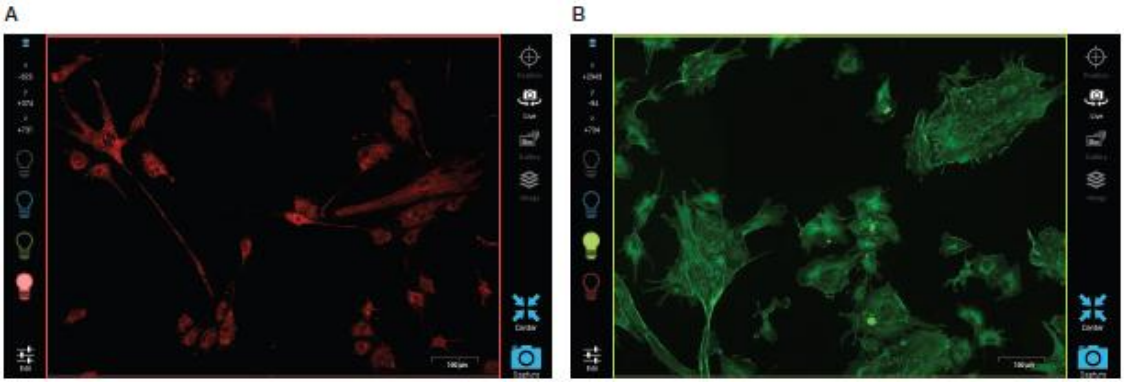


図8. Live モードにて適切な蛍光波長の色で擬似カラー表示したサンプル。A:BPAE 細胞、MitoTracker red CMXRos で染色したミトコンドリア;**B:**BPAE 細胞、Alexa Fluor 488 phalloidin で染色した F-アクチン

検出可能な蛍光物質例

青色チャンネル Ex:355/40nm Em:433/36nm	緑色チャンネル Ex:480/17nm Em:517/23nm	赤色チャンネル Ex:556/20nm Em:615/61nm
Alexa Fluor 350 and 405 dye	Acridine Orange	Alexa Fluor 546, 568, 594 and 610 dye
Cascade Blue	Alexa Fluor 488 dye	Cy3
DAPI	BODIPY Fl	DsRed
Hoechst	eGFP	mCherry
Marina Blue	FITC	mStrawberry
PureBlu™ DAPI	MitoTracker Green FM	MitoTracker Red
PureBlu™ Hoechst 33342	YFP	mKate
ReadiLink 350/440 Antibody Labeling Kit	**ReadiLink 492/516 Antibody Labeling Kit**	RFP
VivaFix™ 353/442 Cell Viability Assay	**VivaFix™ 498/521 Cell Viability Assay**	Texas red
	CFDA-SE	**ReadiLink 555/570 Antibody Labeling Kit**
		ReadiLink 594/610 Antibody Labeling Kit
		VivaFix™ 547/573 Cell Viability Assay
		VivaFix™ 583/603 Cell Viability Assay

太字はバイオ・ラッド製試薬

画像撮影

画面に表示されているサンプルの画像を撮影するには、**Capture** アイコン(図4)をタップします。撮影した画像が画面上に表示され(操作モードは **Live** から **Gallery** に自動的に切り替わります)、画像ファイルが自動的に内部メモリに保存されます。撮影した画像は編集したり、多色重ね合わせ画像合成に使用することができます。詳細については、**「多色重ね合わせ用画像を撮影する」**の項をお読みください。

Gallery モード

撮影した画像はすべて **Gallery** モードで閲覧できます。画像は明視野、青色、緑色および赤色の色別に画像フォルダに保存されます。撮影した画像を重ね合わせて作成した多色画像は Merge フォルダに保存されます。

16 GB の内部メモリに保存可能なファイル数はおおよそ以下のとおりです。

- JPEG　　2,500 ファイルまで
- TIFF　　1,500 ファイルまで
- RAW　　800 ファイルまで

注意: 本体内への保存ファイル数を少なくすることにより(JPEG 形式で 1,000 ファイルまで)、装置の動作がより速くなり、内部メモリの寿命を延ばすこともできます。

撮影した画像を表示する

個々のフォルダを開くには画面左側のフォルダアイコンを使用します(図 10)。画面上でフォルダ(図9)をタップすると開き、そのフォルダの直前に表示された画像を表示します。ギャラリーフォルダが空の場合、表示画面は黒く表示されます。

図9. Gallery モードでアクセスできる5つの画像フォルダ。A:明視野フォルダ **B**:青色蛍光チャンネルフォルダ **C**:緑色蛍光チャンネルフォルダ **D**:赤色蛍光チャンネルフォルダ **E**:多色重ね合わせ画像フォルダ。

いずれのフォルダも、画像データの撮影時刻に従い、画像が整理されています。次の画像に移動するには、表示画面を右側にスワイプします。左側にスワイプすると、その前に撮影した画像が開きます。

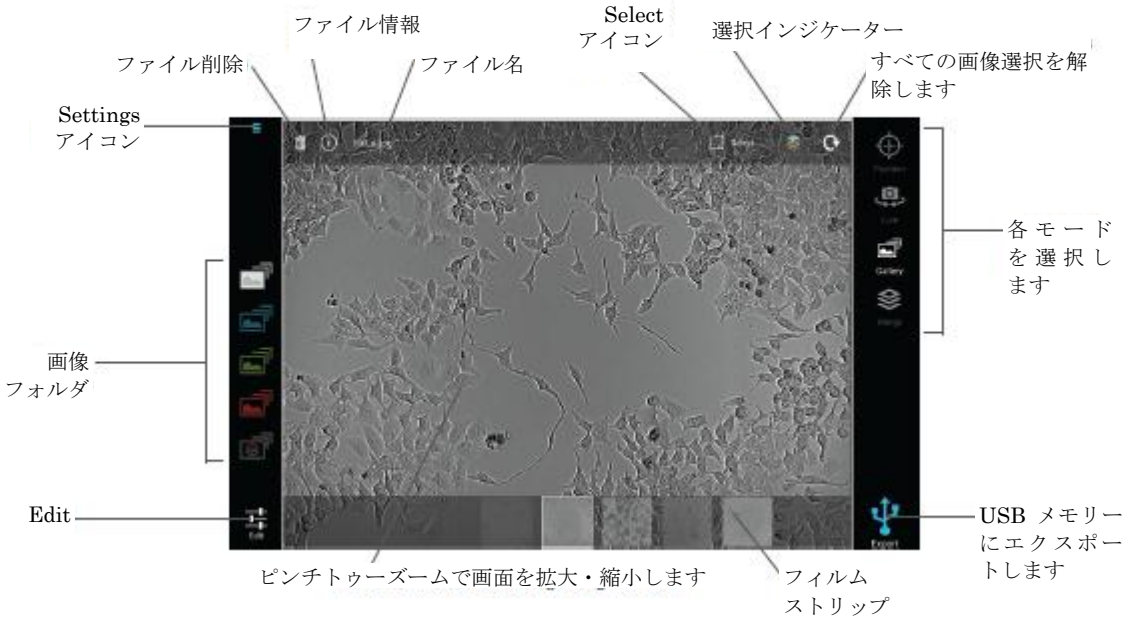


図 10. Gallery モード 明視野チャンネルで撮影した画像が保存されているフォルダを選択したときの画面。

特定のフォルダに保存されている画像の**フィルムストリップ**（図 10）が画面下部に表示されます。表示されている画面のどこかをタップすると非表示になり、再度タップすると元に戻ります。太枠で囲まれたサムネイルは現在開いている画像のサムネイルです。フィルムストリップ上の別のウィンドウをタップすると、その画像が開きます。

ピンチトゥーズームジェスチャを使用して画像を拡大し、より詳細に表示します。

Edit－Edit アイコンをタップし表示されるメニューでスライダーバーをドラッグすると輝度およびコントラストを調節できます。微調整したい場合は、スライダーバーの「－」または「＋」をタップします。

画像ファイル情報－ アイコンをタップするとメニューが開き、ファイルの種類、タイムスタンプなどの情報が表示されます。

表示項目	説明
Name	画像のファイル名
Gain	撮影時の Gain 値
Exposure(ms)	撮影時の露光時間値（ミリ秒）
Intensity	撮影時の光源輝度
Contrast	撮影時のコントラスト値
Created	ファイル作成日付
Last modified	ファイル更新日時
Width	画像幅ピクセル数
Height	画像高さピクセル数
Size	ファイルサイズ（MB）
Path	ZOE 本体内保存ディレクトリー

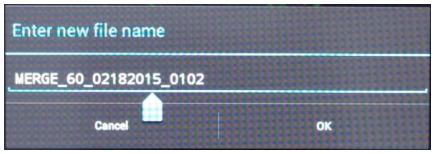
削除－ アイコンをタップすると、「Are you sure you want to permanently delete＜ファイル名＞(を完全に削除しますか)」というメッセージが表示されます。削除する場合は **OK** を、操作を無効にしたい場合は **Cancel** を選択します。

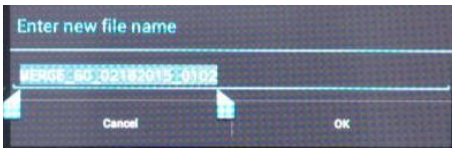
注意：重ね合わせ画像を削除しても、その画像の作成に用いられた単色画像ファイルは削

除されません。

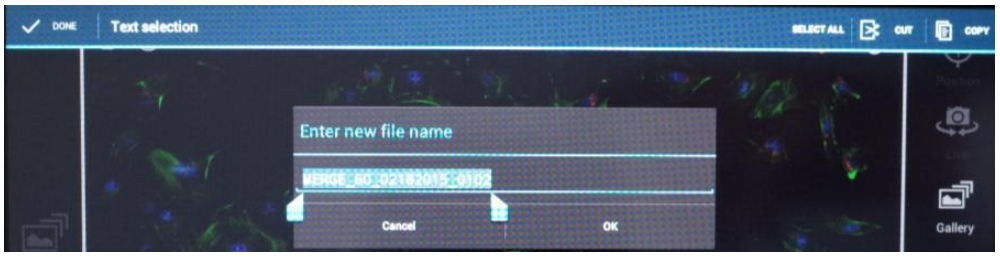
ファイル名－設定されているファイル命名規則に従い、画像を撮影した時点で自動的にファイル名が付与されます。ファイル名を変更するには、ファイル名をタップします。

ファイル名をタップすると仮想キーボードと「Enter new file name」と表示されたファイル名変更ウィンドウが表示されますので、新しいファイル名を入力し、仮想キーボードの **Enter** キーをタップします。これによりキーボードは非表示となり、新しいファイル名が登録されます。





ファイル名をタップすると上図左のようにカーソル位置マークが表示されます。マークを移動することにより、編集位置を変更することができます。またファイル名を 2 回タップすると上図右のようにカーソル位置マークが2つ表示されます。マークに挟まれた位置を編集、コピー、カット、ペーストなどを行うことができます。（下図）



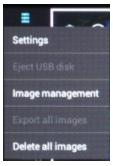
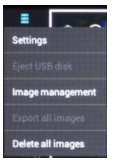
ファイル名を 3 回タップ時に画面上部に表示される編集コマンド

キー	説明
DONE	ファイル名の編集を終了します。
SELECT ALL	ファイル名全体を選択します。
CUT	選択範囲をカットします。
COPY	選択範囲をカットします。
PASTE	選択範囲にペーストします。

キーボード－ファイル名変更時に表示される仮想キーボードは Shift キー等で入力する文字を変更することができます。

エクスポート－Export アイコンをタップし、接続されている USB メモリーに現在開いている画像をエクスポートします。
注意：内蔵メモリーの全ての画像を USB メモリーにエクスポートする場合には、USB メモリーを本体に挿してから、Settings メニューより「Export all images」をタップします。

データエクスポート時の USB メモリー上の保存先

アイコン	エクスポート方法	保存ディレクトリー	画像
	Export(Gallery モード)	USB メモリー直下の「ZOE」フォルダ	疑似カラー画像
	重ね合わせファイル **Export**(Gallery モード) -Settings メニューで Attach single color images to merge が Yes の場合		重ね合わせファイル：カラー 各色ファイル：白黒(m.jpg)
	**Image management**	USB メモリー直下の「ZOE_ALL」フォルダ	各チャンネルごとフォルダに保存 ex:[Blue],[BRIGHTFIELD],[GREEN],[MERGE],[RED]フォルダ 疑似カラー
	**Export all images**	USB メモリー直下の「ZOE_ALL」フォルダ	各チャンネルごとフォルダに保存 ex:[Blue],[BRIGHTFIELD],[GREEN],[MERGE],[RED]フォルダ 疑似カラー

重ね合わせ画像の指定
多色重ね合わせ画像の作成に関する詳細については、**「多色重ね合わせ画像を撮影する」**の項をお読みください。

重ね合わせ用画像選択アイコン－チェックボックスアイコン（図 11）をタップし、多色合成画像を作成するのに使用する画像を選択します。選択した画像は Merge モードに自動的にアップロードされます。

注意：使用できる画像は各チャンネル1枚のみです。選択した画像を新しい画像で置き替えるには、新しい画像が表示された状態で**重ね合わせ画像選択**ボックスをタップします。これにより、そのチャンネルの直前に選択した画像に上書きされます。

選択インジケーター－このアイコン（図 12）は重ね合わせ用に選択された画像を示しています。アイコンをタップすると、該当する画像フォルダ内の選択された画像に移動します。

選択解除－これまでに選択した重ね合わせ画像の選択をすべて解除します。

図 11. 重ね合わせ用選択チェックボックス A:ギャラリー内で選択されていない画像では、チェックボックスが黒く塗りつぶされます。（オフ） **B:**画像が選択されるとチェックボックスは緑色に変わり、白いチェックマークが付きます（オン）。

図 12. マージするチャンネル色を示す選択インジケーター。
青色および緑色ギャラリーの画像が選択されています。

すべての画像を削除する
内蔵メモリーに保存されたすべての画像を削除するには、画面の左上隅にある Settings アイコンをタップし、「Delete all images」を選択します。

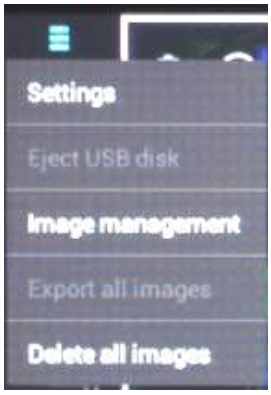


Image management

Settings メニューから「Image management」を選択することにより、ZOE 本体内に保存された任意の画像を複数選択して、エクスポートや削除を行うことができます。

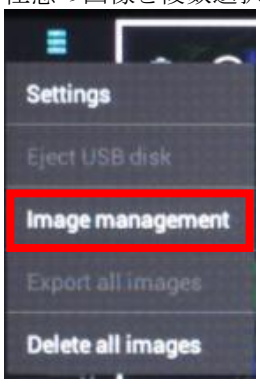
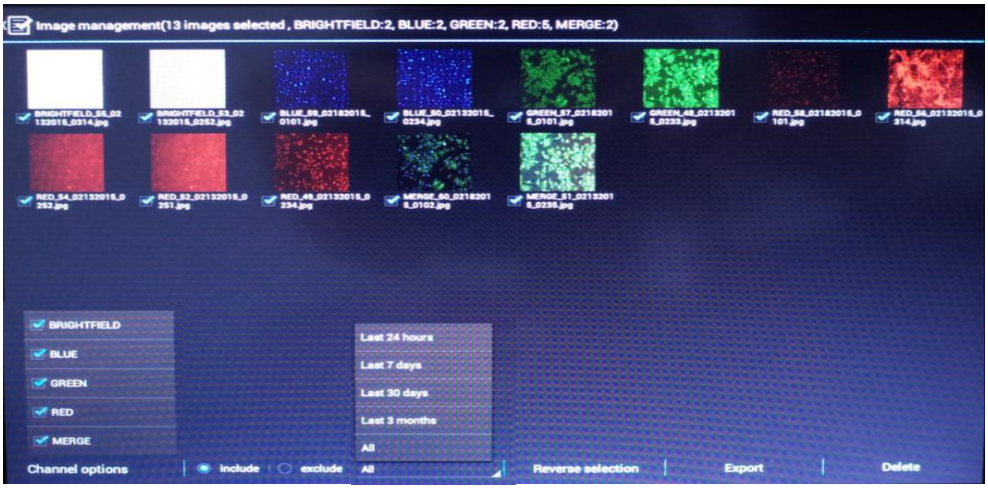


Image management 画面が表示されると表示された画像すべてが選択された状態（画像右下にチェックが入った状態）になっています。
画像にチェックが入った画像が USB メモリーへのエクスポートもしくは削除することができます。



画面下部に表示されている各機能は以下の通りです。

項目	選択肢	内容
Channel Option	BRIGHFIELD BLUE GREEN RED MERGE	チェックを入れる/入れないで、表示するチャンネルを選択することが可能
include/exclude	2 択	下の期間と一緒に使用する。 画像表示を含める/含めないの選択
期間	Last 24 hours Last 7 days Last 30 days Last 3 months ALL	直近 24 時間 直近7日 直近30日 直近3ヶ月 すべて
Reverse selection	–	画像選択を一括で反転させる。
Export	–	USB メモリーに選択画像をエクスポートする
Delete	–	選択画像を消去する。

Merge モード

このモードでは、直前に選択した単色画像を重ね合わせて多色画像を作成します（図 13）。重ね合わせ用画像の撮影および選択に関する詳細については、**「多色重ね合わせ画像を撮影する」**の項をお読みください。

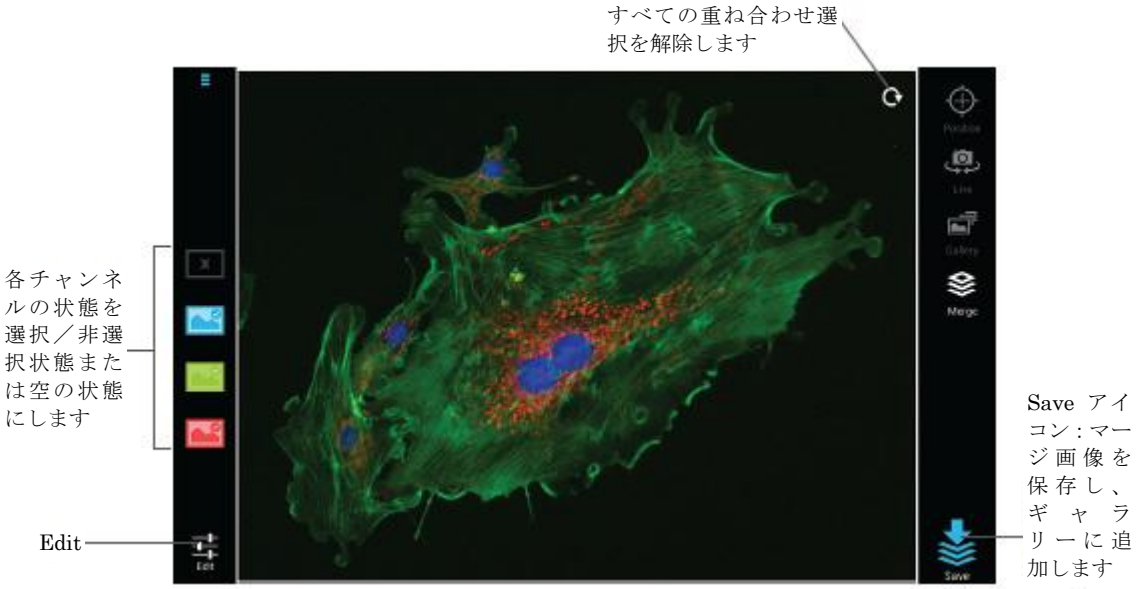


図 13. Merge モード

画面左側のチャンネルアイコンは、そのチャンネルの画像が選択されたかどうかによって表示が変わります（図 14）。

図 14. Merge モードのチャンネルアイコン。 **A:**選択表示状態：選択された画像のあるチャンネル、画像が表示される。 **B:**非選択非表示状態：選択された画像のあるチャンネルであるが画像が非表示となっている。 **C:**空の状態：選択された画像のないチャンネル。

選択チャンネル（画像が表示されている）をタップすると、そのチャンネルを非表示にできます。再度タップすると再び表示されます。

Edit－Brightness(明るさ)と Contrast（コントラスト）を調節したいチャンネルをタップします。スライダーバーをドラッグするか、微調整したい場合は「＋」または「－」をタップします（図 15）。

注意：Merge モードで明視野画像に編集を加えることはできません。明視野画像は必ず Gallery モードで編集し、保存してください。また、Merge モードで選択した画像を Gallery モードで編集し、保存した場合は Merge モードに反映されます。

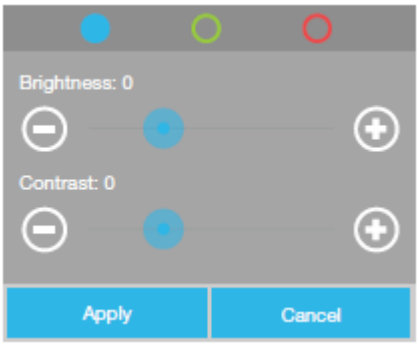


図 15. Merge モードの Edit メニュー

保存－満足の行く多色画像が得られたら、Save アイコン（図 13）をタップします。重ね合わせ画像は Gallery モードの Merge フォルダに保存されます（図 10）。その際には、重ね合わせ元の単色画像へのリンクも一緒に保存されます。

注意：重ね合わせ画像の作成では、保存時に選択されているチャンネルのみ（図 14A）が使用されます。チャンネルが非選択・非表示（図 14B）の場合は、画像を取り込むことはできません。

選択解除－すべての重ね合わせ用画像選択を解除するときに使用します（図 13）。この機能は Gallery モードでも使用できます。

注意：単一のチャンネルを空にするには、Gallery モードで個々の画像フォルダに移動し、選択表示されている Select アイコンをタップします（図 11）。アイコンがオフ状態となり、Merge モードでそのカラーチャンネルが空になります（図 14C）。画像を差し替えるには、Gallery モードに戻り、代わりに使用したい画像において Select アイコンをタップします。

注意：ステージを Centering アイコンで初期位置に移動すると、別の視野が表示されます。異なる視野の画像が誤って重ね合わせされるのを防ぐため、ステージが中央に来ると重ね合わせ用のすべての画像選択が解除されます。

多色重ね合わせ用画像を撮影する

ZOE 蛍光セルイメージャーに搭載されているソフトウェアを使用し、最大4チャンネルの画像を重ね合わせて多色合成を行うことができます。重ね合わせ用画像を撮影するときは、すべての画像がサンプルの同一部位から取得される必要があり、不用意に画面をスワイプしてステージを移動させることのないように注意してください。重ね合わせに使用する画像はすべて同倍率で撮影します。画像撮影時に画面右下隅に表示されるスケールバー（図8）を目安に調節してください。

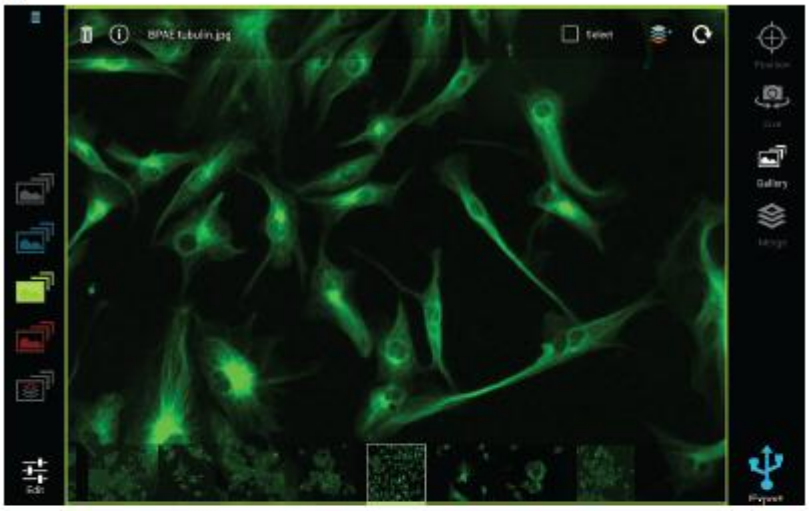
注意：倍率の異なる画像を重ね合わせることはできません。その場合はエラーメッセージが表示されます。

多色マージ用画像を撮影する手順は以下のとおりです。

1. Live モードに移動します。
2. 使用したい光源をオンにします。
3. 必要に応じて Edit メニューで設定値を調節し、**Capture** をタップします。
4. 使用中のモードが Gallery モードに切り替わり、撮影したばかりの画像が表示されます。満足の行く画像が得られたら、画面右上の**画像選択チェックボックス**（図 16A）をタップします。選択した画像が Merge モードにアップロードされます。マージ選択インジケータが自動的に更新され、現在選択されているすべてのチャンネルが表示されます（図 16B）。
5. Live モードに戻り、そのほかに重ね合わせしたいチャンネルについても手順3～4を実行します。
6. Merge モードに移動し、選択したすべての画像を自動で重ね合わせます（詳細については **Merge モード**の項を参照のこと）。
7. 必要であれば、Edit メニューで Brightness(明るさ)と Contrast（コントラスト）を最適値に調節します。**Save** をタップすると重ね合わせ画像が単一画像として保存され、Gallery モードで Merge フォルダにアクセスすることができます。このフォルダから、重ね合わせ元の単色画像ファイルとともに USB メモリーにエクスポートすることができます。

注意：チャンネルごとに使用できる画像は1枚のみです。選択した画像を新しい画像で置き替えるには、新しい画像において**画像選択チェックボックス**をタップします。これにより、そのチャンネルの直前に選択した画像に上書きされます。これまでに行った重ね合わせ選択をすべて消去するには**選択解除アイコン**をタップします。

A



B

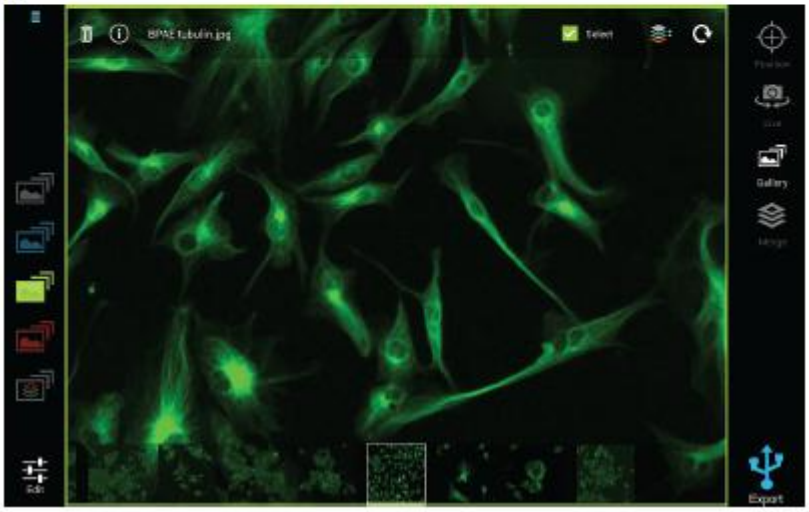


図 16. 重ね合わせ用画像の選択。A:ファイル名は BPAE tubulin.jpg です。このファイルは重ね合わせ用として選択されていない状態です。選択インジケーター（画面右上部）を見ると、青色フォルダの画像のみが重ね合わせ用として選択されています。**B:**現在表示されている画像（BPAE tubulin.jpg）のファイルが重ね合わせ用として選択されている。選択インジケーターを見ると、青色および緑色フォルダの画像が選択されており、Merge モードにアップロードされています。

第 4 章－保守とトラブルシューティング

保守とトラブルシューティング

ZOE™ 蛍光セルイメージャーはわずかなメンテナンスで正常に作動します。ただし、長期にわたりコンスタントに使用する場合は、装置の清掃といくらかの保守作業が必要です。

ZOE セルイメージャーを清掃する

正常な動作の妨げとなるゴミや汚れを取り除くため、本装置を定期的に清掃してください。

本体表面を清掃する
装置を清掃する前に必ず装置の電源を切り、電源コードを取り外してください。柔らかいリントフリー布と脱イオン水を使用して、外装の汚れを拭き取ります。ケースの清掃中に、電源スイッチや電源差し込み口を濡らさないように注意してください。**本体表面のデコンタミネーション（汚染除去）を行う**には、70%アルコールを含ませた柔らかいリントフリー布で外装を拭きます。これらの清掃は本体外装にのみ使用し、液晶画面には使用しないでください。

警告！水やその他の液体を装置に直接かけたり、噴霧したりしないでください。装置をプラグ接続した際に濡れた部品が原因で感電するおそれがあります。

装置の清掃または汚染除去に 10%ブリーチを使用する場合、ブリーチの結晶の残留物により、本体の表面が徐々に傷つくおそれがあります。液晶画面にブリーチが付着した場合は、湿らせた布でブリーチを完全に拭き取ってください。

本体内部に液体をこぼさないでください。細胞培養容器に液を入れすぎないようにし、サンプルステージに載置した際の容器の転倒に注意してください。動作不良の原因となります。

液晶画面を清掃する
液晶画面を清掃する前には必ず装置の電源を切り、電源コードを取り外してください。70%イソプロピルアルコールを含ませた柔らかいリントフリー布で画面を拭きます。その後は直ちに乾いた布で再度拭きとってください。強く拭くと画面を傷つけることがあります。

警告！研磨剤やざらざらしたものは使用しないでください。コントロールパネルやディスプレイの表面に引っかき傷をつける原因となります。液晶画面の清掃にブリーチや水を使用しないでください。残留物による画面の曇りが発生します。やむを得ず水を用いる場合は、必ず蒸留水を使用してください。

対物レンズを清掃する

1. 対物レンズを最も高い焦点位置に配置します。
2. 装置の電源プラグを抜きます。
3. 弊社が推奨するレンズ用クリーナーを1滴含ませたレンズ用ティッシュまたは綿棒で対物レンズを優しく拭き取り、乾かします。

レンズ用清掃液(推奨品)

■ レンズ用クリーナー、Zeiss、#490133
■ スパークル光学レンズ用クリーナー、AmScope、#50104

レンズ用ティッシュ(推奨品)

■ 市販のレンズ用ティッシュ、Edmund Scientific Co.、#52105
■ 綿棒、Edmund Scientific Co.、#56926

警告！ステージの穴に指を入れたり、モーター駆動式ステージを移動させながら対物レンズを清掃したりしないでください。

バッテリー

ZOE 蛍光セルイメージャーは時計設定条件保持用の 3V リチウムコイン電池を使用しており、平均寿命は約 10 年です。ユーザーが入力していないのに装置の日付がずれるときは、バッテリーの消耗が考えられます。このような症状がみられる場合は、バイオ・ラッドテクニカルサポートにバッテリーの交換を依頼してください。

警告！ユーザーご自身でバッテリーを交換することはおやめください。バイオ・ラッドテクニカルサポートまでご連絡ください。

以下の記載は米国カリフォルニア州のユーザーのみに適用されます。
過塩素酸塩を含む物質－特別な取扱いが適用される場合があります。詳細は www.dtsc.ca.gov/hazardouswaste/perchlorate をご参照ください。
過塩素酸塩を含む物質:リチウム電池には過塩素酸塩が含まれています。

第 5 章－ソフトウェアに関する通知および条項

ソフトウェアに関する通知および条項(Software Notices and Terms)

Open Source Licensing

Apache License, Version 2.0, January 2004

www.apache.org/licenses/

TERMS AND CONDITIONS FOR USE, REPRODUCTION, AND DISTRIBUTION

1. Definitions.

"License" shall mean the terms and conditions for use, reproduction, and distribution as defined by Sections 1

through 9 of this document.

"Licensor" shall mean the copyright owner or entity authorized by the copyright owner that is granting the License."Legal Entity" shall mean the union of the acting entity and all other entities that control, are controlled by, or are under common control with that entity. For the purposes of this definition, "control" means (i) the power, direct or indirect, to cause the direction or management of such entity, whether by contract or otherwise, or (ii) ownership of fifty percent (50%) or more of the outstanding shares, or (iii) beneficial ownership of such entity.

"You" (or "Your") shall mean an individual or Legal Entity exercising permissions granted by this License.

"Source" form shall mean the preferred form for making modifications, including but not limited to software source code, documentation source, and configuration files.

"Object" form shall mean any form resulting from mechanical transformation or translation of a Source form, including but not limited to compiled object code, generated documentation, and conversions to other media types."Work" shall mean the work of authorship, whether in Source or Object form, made available under the License, as indicated by a copyright notice that is included in or attached to the work (an example is provided in the Appendix below).

"Derivative Works" shall mean any work, whether in Source or Object form, that is based on (or derived from) the Work and for which the editorial revisions, annotations, elaborations, or other modifications represent, as a whole, an original work of authorship. For the purposes of this License, Derivative Works shall not include works that remain separable from, or merely link (or bind by name) to the interfaces of, the Work and Derivative Works thereof."Contribution" shall mean any work of authorship, including the original version of the Work and any modifications or additions to that Work or Derivative Works thereof, that is intentionally submitted to Licensor for inclusion in the Work by the copyright owner or by an individual or Legal Entity authorized to submit on behalf of the copyright owner. For the purposes of this definition, "submitted" means any form of electronic, verbal, or written communication sent to the Licensor or its representatives, including but not limited to communication on electronic mailing lists, source code control systems, and issue tracking systems that are managed by, or on behalf of, the Licensor for the purpose of discussing and improving the Work, but excluding communication that is conspicuously marked or otherwise designated in writing by the copyright owner as "Not a Contribution."

"Contributor" shall mean Licensor and any individual or Legal Entity on behalf of whom a Contribution has been received by Licensor and subsequently incorporated within the Work.

2. Grant of Copyright License. Subject to the terms and conditions of this License, each Contributor hereby grants to You a perpetual, worldwide, non-exclusive, no-charge, royalty-free, irrevocable copyright license to reproduce, prepare Derivative Works of, publicly display, publicly perform, sublicense, and distribute the Work and such Derivative Works in Source or Object form.

3. Grant of Patent License. Subject to the terms and conditions of this License, each Contributor hereby grants to You a perpetual, worldwide, non-exclusive, no-charge, royalty-free, irrevocable (except as stated in this section) patent license to make, have made, use, offer to sell, sell, import, and otherwise transfer the Work, where such license applies only to those patent claims licensable by such Contributor that are necessarily infringed by their Contribution(s) alone or by combination of their Contribution(s) with the Work to which such Contribution(s) was submitted. If You institute patent litigation against any entity (including a cross-claim or counterclaim in a lawsuit) alleging that the Work or a Contribution incorporated within the Work constitutes direct or contributory patent infringement, then any patent licenses granted to You under this License for that Work shall terminate as of the date such litigation is filed.

4. Redistribution. You may reproduce and distribute copies of the Work or Derivative Works thereof in any medium, with or without modifications, and in Source or Object form, provided that You meet the following conditions:

1. You must give any other recipients of the Work or Derivative Works a copy of this License; and
2. You must cause any modified files to carry prominent notices stating that You changed the files; and
3. You must retain, in the Source form of any Derivative Works that You distribute, all copyright, patent, trademark, and attribution notices from the Source form of the Work, excluding those notices that do not pertain to any part of the Derivative Works; and
4. If the Work includes a "NOTICE" text file as part of its distribution, then any Derivative Works that You distribute must include a readable copy of the attribution notices contained within such NOTICE file, excluding those notices that do not pertain to any part of the Derivative Works, in at least one of the following places: within a NOTICE text file distributed as part of the Derivative Works; within the Source form or

documentation, if provided along with the Derivative Works; or, within a display generated by the Derivative Works, if and wherever such third-party notices normally appear. The contents of the NOTICE file are for informational purposes only and do not modify the License. You may add Your own attribution notices within Derivative Works that You distribute, alongside or as an addendum to the NOTICE text from the Work, provided that such additional attribution notices cannot be construed as modifying the License. You may add Your own copyright statement to Your modifications and may provide additional or different license terms and conditions for use, reproduction, or distribution of Your modifications, or for any such Derivative Works as a whole, provided Your use, reproduction, and distribution of the Work otherwise complies with the conditions stated in this License.

5. Submission of Contributions. Unless You explicitly state otherwise, any Contribution intentionally submitted for inclusion in the Work by You to the Licensor shall be under the terms and conditions of this License, without any additional terms or conditions. Notwithstanding the above, nothing herein shall supersede or modify the terms of any separate license agreement you may have executed with Licensor regarding such Contributions.

6. Trademarks. This License does not grant permission to use the trade names, trademarks, service marks, or product names of the Licensor, except as required for reasonable and customary use in describing the origin of the Work and reproducing the content of the NOTICE file.

7. Disclaimer of Warranty. Unless required by applicable law or agreed to in writing, Licensor provides the Work (and each Contributor provides its Contributions) on an "AS IS" BASIS, WITHOUT WARRANTIES OR CONDITIONS OF ANY KIND, either express or implied, including, without limitation, any warranties or conditions of TITLE, NON-INFRINGEMENT, MERCHANTABILITY, or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. You are solely responsible for determining the appropriateness of using or redistributing the Work and assume any risks associated with Your exercise of permissions under this License.

8. Limitation of Liability. In no event and under no legal theory, whether in tort (including negligence), contract, or otherwise, unless required by applicable law (such as deliberate and grossly negligent acts) or agreed to in writing, shall any Contributor be liable to You for damages, including any direct, indirect, special, incidental, or consequential damages of any character arising as a result of this License or out of the use or inability to use the Work (including but not limited to damages for loss of goodwill, work stoppage, computer failure or malfunction, or any and all other commercial damages or losses), even if such Contributor has been advised of the possibility of such damages.

9. Accepting Warranty or Additional Liability. While redistributing the Work or Derivative Works thereof, You may choose to offer, and charge a fee for, acceptance of support, warranty, indemnity, or other liability obligations and/or rights consistent with this License. However, in accepting such obligations, You may act only on Your own behalf and on Your sole responsibility, not on behalf of any other Contributor, and only if You agree to indemnify, defend, and hold each Contributor harmless for any liability incurred by, or claims asserted against, such Contributor by reason of your accepting any such warranty or additional liability.

Copyright © 2014, Bio-Rad Laboratories

All rights reserved.

Redistribution and use in source and binary forms, with or without modification, are permitted provided that the following conditions are met:

1. Redistributions of source code must retain the above copyright notice, this list of conditions and the following disclaimer.

2. Redistributions in binary form must reproduce the above copyright notice, this list of conditions and the following disclaimer in the documentation and/or other materials provided with the distribution.

THIS SOFTWARE IS PROVIDED BY THE COPYRIGHT HOLDERS AND CONTRIBUTORS "AS IS" AND ANY EXPRESS OR IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE ARE DISCLAIMED. IN NO EVENT SHALL THE COPYRIGHT OWNER OR CONTRIBUTORS BE LIABLE FOR ANY DIRECT, INDIRECT, INCIDENTAL, SPECIAL, EXEMPLARY, OR CONSEQUENTIAL DAMAGES (INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, PROCUREMENT OF SUBSTITUTE GOODS OR SERVICES; LOSS OF USE, DATA, OR PROFITS; OR BUSINESS INTERRUPTION) HOWEVER CAUSED AND ON ANY THEORY OF LIABILITY, WHETHER IN CONTRACT, STRICT LIABILITY, OR TORT (INCLUDING NEGLIGENCE OR OTHERWISE) ARISING IN ANY WAY OUT OF THE USE OF THIS SOFTWARE, EVEN IF ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGE.

The views and conclusions contained in the software and documentation are those of the authors and should not be interpreted as representing official policies, either expressed or implied, of the FreeBSD Project.

6 第 6 章－セルイメージャー関連試薬

種類	No.	カタログ番号	品名
核染色試薬	1	135-1303	PureBlu DAPI Nuclear Staining Dye
	2	135-1304	PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staing Dye
抗体ラベルキット	3	135-1001～ 135-1004	ReadiLink KIT
固定化処理対応 生存率アッセイ	4	135-1111 ～ 135-1117	VivaFix Cell Viability Assay（200 回分）
細胞増殖アッセイ	5	135-1201	CFDA-SE （5x100μg）

PureBlu™　DAPI Nuclear Staining Dye　取扱説明書

カタログ番号	品名
135-1303	**PureBlu DAPI Nuclear Staining Dye**,　50μg バイアル　x 5 本

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

はじめに

PureBlu DAPI Nuclear Staining Dye は 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride(DAPI) 蛍光色素(図 1)の高純度製剤を使いやすい形状で梱包した製品です。

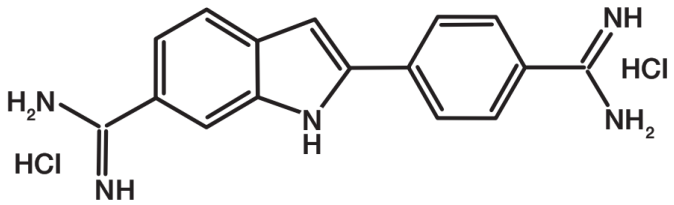


図 1 PureBlu DAPI Nuclear Staining Dye の分子構造

DAPI は AT-rich な DNA 配列の副溝(minor groove)に高親和性で結合することにより、真核細胞および原核細胞の DNA を染色することができる細胞透過性蛍光物質です。

DAPI が DNA に結合し、UV 光源によって励起された場合に 461nm に最大蛍光波長を持つ青い蛍光が検出されます。PureBlu DAPI は固有の約 100nm のストークシフトを有し(図 2)、良好なスペクトル分離が必要な場合に最適な色素です。

PureBlu DAPI Nuclear staining Dye は固定処理された細胞と固定処理されていない細胞のいずれにも使用することができます。色素は生細胞の細胞膜を透過することができますが、色素量は D 固定処理された細胞を染色する場合よりも通常は多めに必要になり、最適濃度は実験的に決定する必要があります。同じシリーズの PureBle Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye(カタログ番号:135-1304)は生細胞については DAPI のかわりに使用することができます。

Pure Blu DAPI Nuclear Staining Dye は容易に調製できる形式で提供されています。各バイアルには 50μg の PureBlu DAPI 粉末が含まれており、1つのバイアルで 50ml の 1μg/ml 濃度のワーキング溶液を調製することができます。

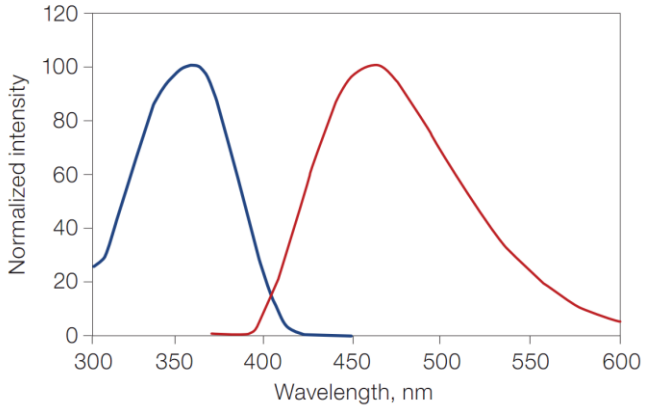


図 2　PureBlu DAPI の励起/蛍光スペクトル

仕様内容と保管

仕様と保存条件は表 1 のガイドラインに従ってください。

表 1 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量
化学式	$C_{16}H_{17}Cl_2N_5$
分子量	350.3
最大励起/蛍光波長	359nm/461nm
CAS	28718-90-3
純度	95%以上(high-performance liquid chromatography)
溶解性	脱イオン水(DI H_2O)とジメチルスルホキシド(DMSO:dimethyl sulfoxide)に溶解
長期保存	-20℃
保管と安定性	-20℃で 2 年間安定。溶解した場合には PureBlu DAPI は -20℃で 1 年間安定もしくは 2～8℃で 6 ヶ月安定。
取扱注意点	遮光して保存すること

細胞染色プロトコール

注: 各細胞種での最適な濃度は実験的に決定してください。

染色溶液の調製

1. 乾燥粉末の PureBlu DAPI が入ったチューブ 1 本に対して、500 μl の DI H_2O を加えた後、ボルテックスをして 100x ストック溶液を調製します。
2. ストック溶液を 1xPBS で 1:100 に希釈して、1 μg/ml 染色溶液を調製します。

染色手順

1. 細胞種ごとの最適な条件下で細胞を培養します。
2. 細胞を1xPBS で洗浄します。
3. オプション:細胞を 3.7%ホルムアルデヒドで 10 分間、室温で固定します。
4. オプション:細胞を 1xPBS で洗浄し、PBST(0.1% Triton X-100 を含む PBS)で室温で 5 分間透過処理をします。
5. 細胞を1xPBS で洗浄します。
6. 1x 染色溶液で 15 分間、室温で細胞を染色します。
7. 細胞を1xPBS で洗浄します。
8. オプション:PBS を除去し、退色防止封入剤で細胞を封入します。
9. 細胞画像を撮影します。

より詳細な情報は URL をご参照ください。 www.bio-rad.com/PureBluDAPI

Triton は Dow Chemical Company の登録商標です。

PureBlu™　Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye 取扱説明書

カタログ番号	品名
135-1304	**PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye**,　56μg バイアル x 5 本

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

はじめに

PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye は Hoechst 33342 蛍光色素(図 1)の高純度製剤を使いやすい形状で梱包した製品です。

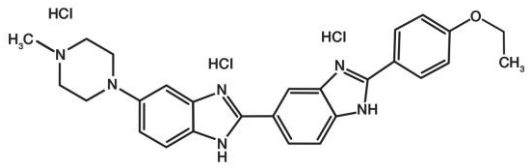


図 1 PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye の分子構造

Hoechst 33342 は AT-rich な DNA 配列の副溝(minor groove)に高親和性で結合することにより、真核細胞および原核細胞の DNA を染色することができる細胞透過性蛍光物質です。

Hoechst 33342 が DNA に結合し、UV 光源によって励起された場合に 461nm に最大蛍光波長を持つ青い蛍光が検出されます。PureBlu Hoechst 33342 は固有の約 100nm のストークシフトを有し(図 2)、良好なスペクトル分離が必要な場合に最適な色素です。

Hoechs は蛍光顕微鏡や染色体ソーティング、フローサイトメトリーを用いた細胞周期分析など様々なアプリケーションに利用されていることが科学文献で報告されています。

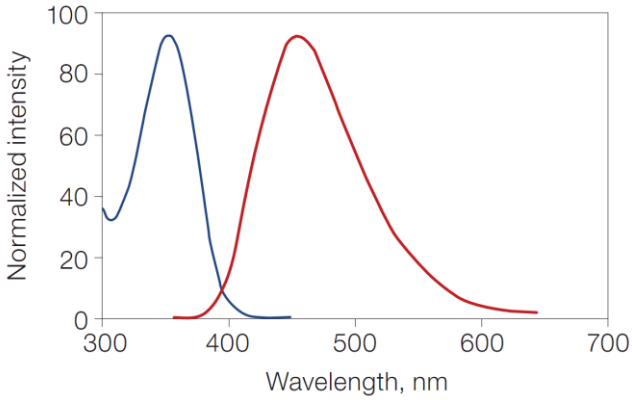


図 2 PureBlu Hoechst 33342 の励起/蛍光スペクトル

PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye は固定処理された細胞と固定処理されていない細胞のいずれにも使用することができます。特に、生細胞では DAPI(4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride)よりも高い細胞膜透過性を示し、生細胞の DNA 染色に最適です。

Pure Blu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye は容易に調製できる形式で提供されています。各バイアルには 56μg の PureBlu Hoechst 33342 粉末が含まれており、1つのバイアルで 50ml の 1.1μg/ml(2μM)濃度のワーキング溶液を調製することができます。

仕様内容と保管

仕様と保存条件は表 1 のガイドラインに従ってください。

表 1 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量
化学式	$C_{27}H_{28}N_6O$・3HCl
分子量	561.93
最大励起/蛍光波長	350nm/461nm
CAS	23491-52-3
純度	95%以上(high-performance liquid chromatography)
溶解性	脱イオン水(DI H_2O)とジメチルスルホキシド(DMSO:dimethyl sulfoxide)に溶解
長期保存	-20℃
保管と安定性	-20℃で 2 年間安定。懸濁した場合には PureBlu Hoechst 色素 I は -20℃で 1 年間安定もしくは 2～8℃で 6 ヶ月安定。
取扱注意点	遮光して保存すること

細胞染色プロトコール

注: 各細胞種での最適な濃度は実験的に決定してください。

染色溶液の調製

1. 乾燥粉末の PureBlu Hoechst 33342 が入ったチューブ 1 本に対して、500 μl の DI H_2O を加えた後、ボルテックスをして 100x ストック溶液(1.1 μg/ml[2 μM])を調製します。
2. 生細胞染色の場合には、ストック溶液を未使用の培地で 1:100 に希釈、固定化細胞には 1xPBS で 1:100 に希釈して、1x 染色溶液を調製します。

生細胞染色手順

1. 細胞種ごとの最適な条件下で細胞を培養します。
2. 培地を 1x 染色溶液(未使用の培地で調製したもの)に交換して、15 分間、37℃にてインキュベートします。
3. 事前に 37℃に加温した1xPBS で細胞を洗浄します。
4. PBS を吸引して、事前に 37℃に加温した新鮮な培地を加えます。
5. 細胞画像を撮影します。

固定化細胞染色手順

1. 細胞種ごとの最適な条件下で細胞を培養します。
2. 細胞を1xPBS で洗浄します。
3. 4%ホルムアルデヒドで 10 分間、室温にて細胞を固定化します。
4. オプション:1xPBS で洗浄し、PBST(0.1% Triton X-100 を含む 1xPBS)で室温で 5 分間透過処理をします。
5. 細胞を1xPBS で洗浄します。
6. 1x 染色溶液(1xPBS で調製したもの)で 15 分間、室温で細胞を染色します。
7. 細胞を1xPBS で洗浄します。
8. オプション:PBS を除去し、退色防止封入剤で細胞を封入します。
9. 細胞画像を撮影します。

より詳細な情報は URL をご参照ください。 www.bio-rad.com/PureBluDAPI

Triton は Dow Chemical Company の登録商標です。

ReadiLink Antibody Labeling Kit　取扱説明書

カタログ番号	品名
135-1001～135-1010	ReadiLink　Antibody Labeling Kit

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

バイオ･ラッドの ReadiLink 抗体標識キットは、マイクロボリューム（50～100 μｇの）のための簡単な蛍光標識を提供します。簡単に精製工程を必要することなく、簡単な 2 ステップ（図 1）で抗体を標識します。

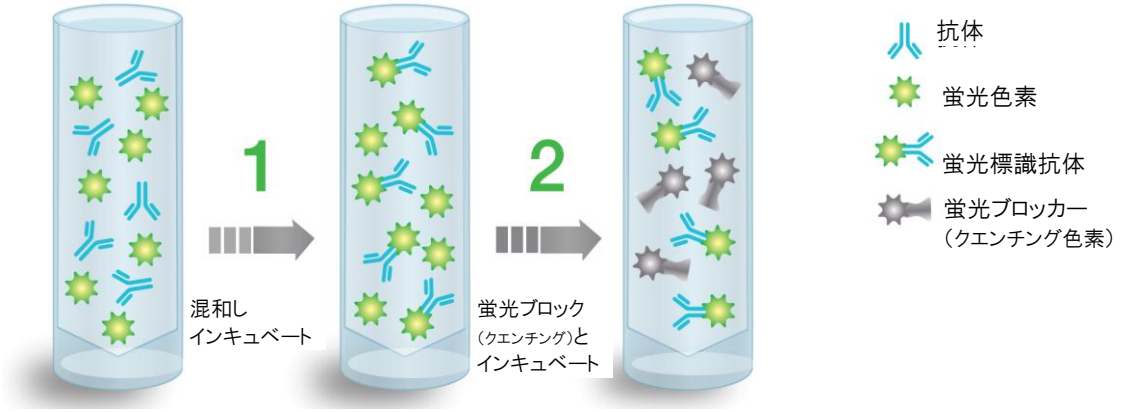


図 1 2 ステップでの効率的な抗体への蛍光標識

各 ReadiLink 色素は反応性部（サクシンニジルエステル - 蛍光物質）が含まれています。反応性色素は蛍光物質と抗体が解離しないように選択的に安定なカルボキサミド結合を形成するタンパク質の第一級アミンに結合します。抗体と標識後に蛍光ブロッカーバッファー(Quencher Buffer)を加えることで ReadiLink 色素は蛍光ブロッカーと結合して、非蛍光状態になります。

ReadiLink Antibody Labeling kit は 2 反応（2×50 μｇタンパク質）を行うためのすべての基本的な構成品が含まれています。キットは、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体、または他のタンパク質（10kD 以上）を標識するために使用することができます。

キットの構成内容と保管

キットの構成要素を保存条件は表 1 のガイドラインに従ってください。

表 1 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量	保存温度
ReadiLink 色素 (ReadiLink labeling dye)	2 バイアル **注意**：50 μｇ の抗体を標識するために1バイアルを使用します。	-20℃
反応バッファー (Reaction buffer)	1 バイアル（20 μｌ）	-20℃
蛍光ブロックバッファー (Quench buffer)	1 バイアル（20 μｌ）	-20℃

50μgの抗体を標識するプロトコール

重要:使用前に全てのキット構成品を解凍してください。

注:目的の抗体をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)pH を 7.2～7.4 に懸濁するか、又は溶液中の遊離アミンまたはアンモニウム塩を除去するために標識前に PBS で透析をする必要があります。

注:最適な抗体結合は、1 mg / ml である。異なるコンジュ濃度で行わ結合は最適ではないラベルが発生することがあります。

1. 1 mg / ml 濃度にするために、目的抗体を PBS 中に再懸濁します。
2. ステップ 1 からの抗体溶液 50μl に反応バッファー(Reaction buffer)溶液 5μL を加える。
3. ピペッティングにより数回上下によく混ぜる。
4. ReadiLink 色素(ReadiLink labeling dye)の 1 バイアルに抗体溶液全量(55μl)を添加し、ピペッティングにより混和する。
5. 室温で 60 分間インキュベートする。
6. 反応混合溶液に蛍光ブロックバッファー(Quench buffer)を 5μl を添加する。
7. 室温で 10 分間インキュベートする。
8. 抗体は蛍光標識され、使用できる準備が整いました。

様々な励起/発光の ReadiLink 抗体標識キット

抗体への蛍光標識のために適切な ReadiLink キットを選択するには、下表をご参照ください。

カタログ番号	品名	最大励起波長 nm	最大蛍光波長 nm	ZOE 検出チャンネル
135-1001	ReadiLink 350/440	350	440	青色(Blue)
135-1002	ReadiLink 492/516	492	516	緑色(Green)
135-1003	ReadiLink 555/570	555	570	赤色(Red)
135-1004	ReadiLink 594/610	594	610	赤色(Red)
135-1005	ReadiLink 633/655	633	655	-
135-1006	ReadiLink 647/674	647	674	-
135-1007	ReadiLink 680/701	680	701	-
135-1008	ReadiLink 700/713	700	713	-
135-1009	ReadiLink 750/779	750	779	-
135-1010	ReadiLink 790/811	790	811	-
135-1011	ReadiLink 405/454	403	454	-
135-1012	ReadiLink 405/508	414	508	-
135-1013	ReadiLink 405/537	405	537	-

より詳細な情報は以下の URL をご参照ください。

www.bio-rad.com/readilink

VivaFix™ Cell Viability Assay 取扱説明書

カタログ番号	品名		
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay	135-1115	VivaFix 498/521 Cell Viability Assay
135-1112	VivaFix 410/450 Cell Viability Assay	135-1116	VivaFix 547/573 Cell Viability Assay
135-1113	VivaFix 408/512 Cell Viability Assay	135-1117	VivaFix 583/603 Cell Viability Assay
135-1114	VivaFix 398/550 Cell Viability Assay	135-1118	VivaFix 649/660 Cell Viability Assay

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

VivaFix cell viability assay はフローサイトメトリーや顕微鏡で哺乳類動物細胞の生存率を評価することが簡単に多目的にできる試薬です。ほとんどのフローサイトメトリー実験ではサンプル内の死細胞除去は非特異的な蛍光シグナルによるデータの誤解釈を防ぐために重要なステップです。

VivaFix Cell Viability Assay の独自の色素が共有結合的に第一級アミンに結合することによって、生細胞と死細胞とを簡単に区別することができます。 生細胞では、VivaFix 色素は、細胞表面の一次アミンに結合します。原形質膜が損なわれた死細胞の場合、色素が細胞質内に浸透し、細胞内の一級アミンと反応します。その結果、より多くの蛍光分子が死細胞に取り込まれるため、生細胞と死細胞とでは蛍光強度に少なくとも 100 倍の差が生じることにより、二つの集団(FIG1)を容易に識別することが可能になります。

VivaFix は、幅広い範囲の励起/蛍光スペクトルでの利用可能であり、マルチカラー実験に組み合わせるのに最適です。VivaFix 色素は、細胞固定とした場合にも蛍光の著しい退光がなくご使用頂けます。

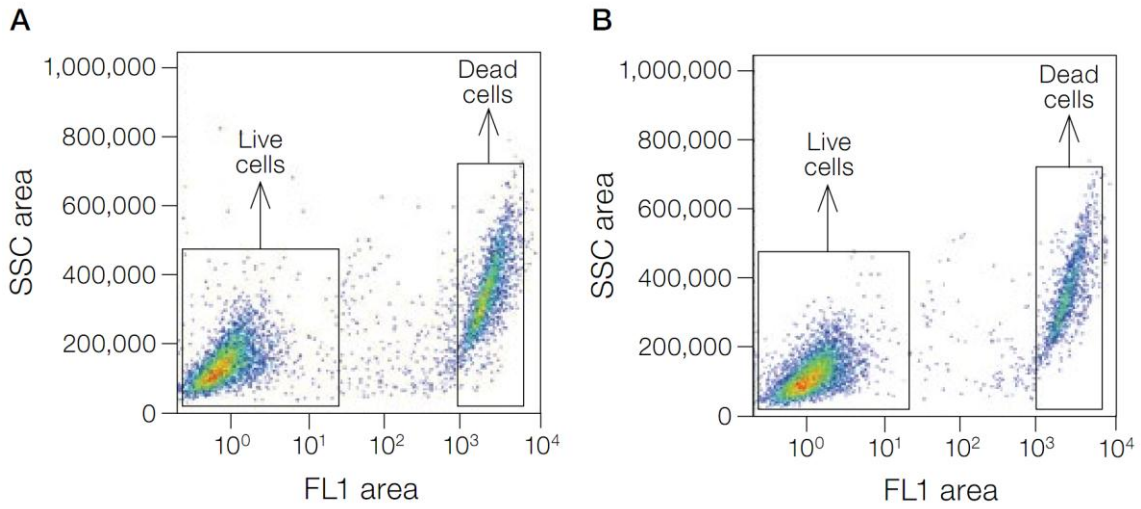


図 1 VivaFix 細胞生存率アッセイを使用した生細胞と死細胞の間で優れた分離。
Jurkat 細胞を固定し、VivaFix498/521 色素を用いて染色した 。(A)3.7%ホルムアルデヒドで固定した。
(B)未固定サンプル。S3™セルソーターで分析した。 SSC は側方散乱光。

キット構成

キット構成品	数量	保存条件
VivaFix viability Dye	4 バイアル(50 回分/バイアル)	-20℃
DMSO	1 バイアル(250 μl)	-20℃

細胞固定可能な細胞生存率アッセイ

以下の表を使用して、サンプルに最適な VivaFixAssay を選択してください。

表 1 最適励起レーザー波長

カタログ番号	品名	最適励起レーザーnm	ZOE 検出チャンネル
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay	405	青色(Blue)
135-1112	VivaFix 410/450 Cell Viability Assay	405	-
135-1113	VivaFix 408/512 Cell Viability Assay	405	-
135-1114	VivaFix 398/550 Cell Viability Assay	405	-
135-1115	VivaFix 498/521 Cell Viability Assay	488	緑色(Green)
135-1116	VivaFix 547/573 Cell Viability Assay	561	赤色(Red)
135-1117	VivaFix 583/603 Cell Viability Assay	561	赤色(Red)
135-1118	VivaFix 649/660 Cell Viability Assay	640	-

プロトコール

重要: 使用前にすべてのバイアルを解凍してからご使用ください。

注意: アジ化ナトリウム、血清、タンパク質を含まないバッファーの代わりとしてリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を使うことができます。

1. VivaFix Dye バイアルに DMSO 50 μl を加えて、ボルテックスミキサー等で良く混和し 500x のストック溶液を作成する。
2. サンプル細胞を PBS で洗浄し、2～3 x 10^6 cell/ml の濃度で PBS 中に再懸濁する。
3. 0.5ml cells/assay に対してステップ1で作成した 500x ストック溶液を 1 μl を加えてボルテックス等で混和する。
4. 遮光の上、室温で 30 分間もしくは 37℃/5% CO_2 インキュベーターでインキュベートする。

注意: 異なる細胞株に対する最適な色素濃度並びにインキュベーション時間は実験的に評価をする必要があります。

5. 細胞を PBS で 2 回洗浄する。
6. 必要があれば細胞を固定化する。3.7%ホルムアルデヒドの場合：
   - ステップ5に続いて 900 μl の PBS で細胞を再懸濁する。
   - 細胞懸濁液に 100 μl の 37%ホルムアルデヒドを加えます。
   - 室温で 15 分インキュベートしてから、PBS で細胞を 2 回洗浄します。
7. フローサイトメトリー用分析バッファー中に細胞を再懸濁する。
8. ZOE 蛍光セルイメージャーでで細胞を観察もしくは画像撮影する。

CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit 取扱説明書

カタログ番号	品名
135-1201	CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

CFDA-SE（5[6] - カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル）細胞増殖アッセイは、100μg バイアルに包装されています。DMSO を加えるだけで簡単に試薬調製ができるため、秤量の手間や試薬の無駄を省きます。

CFDA-SE は、細胞分裂を検出し、追跡するのに有用な細胞透過性試薬です。生細胞に入ると、CFDA-SE のアセテート基は細胞内のエステラーゼによって消化され、蛍光を発するカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル（CFSE）になります。 CFSE は、細胞内遊離第一級アミンと反応し安定な共有結合をし、細胞内サイトゾルに保持されます。細胞分裂時には CFSE の蛍光強度は連続的に各世代ごとに半減するため、世代の識別をすることが可能になります。

化学的および物理的性質

分子量:557.46
CAS 番号:150347-59-4
最大励起:492 nm
発光最大:517 nm

CFDA-SE の励起/蛍光波長は、図1を参照してください。

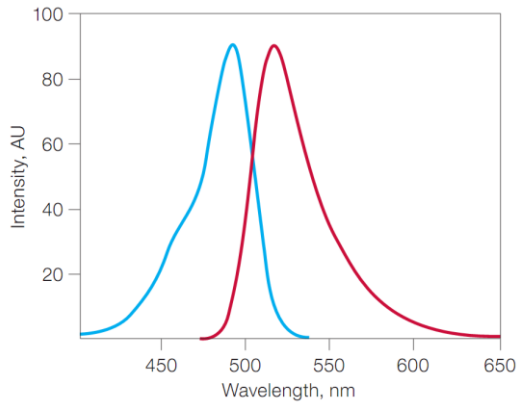


図 1 CFDA-SE の 0.1M NaOH 中の最大励起/蛍光波長は 492 /517nm である。励起波長（ – ）;発光波長（ – ）。AU、吸光度単位。

キットの内容と保管

キット構成品の保存条件は表1 キット構成品と保存条件に従ってください。

表 1 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量	保存温度
CFDA-SE	5 バイアル（各バイアル 当 たり 100μg）	-20℃ 遮光し、湿気を避け保存すること。

アッセイプロトコール

重要:使用前にすべての構成品を解凍すること。

注:以下のプロトコールはガイドラインであり、必要に応じて、各実験のために修正する必要があります。

1. CFDA-SE バイアルに DMSO を 892.5 μL を加え、200 μM のストック溶液を調製し、ボルテックスで混和する。
2. ステップ1で調製したストック溶液を pH7 の選択したバッファー(表 2)を用いて、希釈して作業溶液(5～0.5 μM)を調製します。
3. 作業溶液 500 μl に 1×10^6 個の目的細胞を再懸濁します。
4. 室温で 5～20 分間遮光してインキュベートします。
5. サンプルを遠心分離し、上澄を除去します。
6. 選択バッファー3ml で細胞ペレットを洗浄します。
7. あらかじめ温めておいた新しい培地 500 μl 中に細胞を再懸濁します。
8. ゼロ時間の分析するために 200 μL を 5ml チューブに移します。
9. 細胞増殖に適した条件で残りの細胞を培養します。
10. 細胞を回収し、必要に応じて他のマーカーで染色します。
11. ZOE 蛍光セルイメージャーで緑色(Green)チャンネルで検出し、観察撮影を行います。

表 2　CFDA-SE 作業溶液の調製

希釈率	保存容量 μl	バッファー容量 μl	最終容量 ml	作業溶液濃度 μM
1:40	25	975	1	5
1:50	20	980	1	4
1:67	15	985	1	3
1:100	10	990	1	2
1:200	5	995	1	1
1:400	2.5	997.5	1	0.5

関連製品

CytoTrack™ Cell Proliferation Assay Kits は簡単にマルチカラーでの細胞分析のための 4 つの異なる色で提供されています。青、緑、黄、赤。
簡単に現在ご使用の染色パネルに細胞トラッキング色素を組み込むことができます。細胞を標識するために、適切な CytoTrack キットを選択するには、表 3 を使用しています。

CytoTrack Cell Proliferation Assay Kits の Ordering Inforamtion

カタログ番号	品名	最適励起レーザー波長
135-1202	CytoTrack Blue 403/454	405
135-1203	CytoTrack Green 511/525	488
135-1204	CytoTrack Yellow 542/556	532
135-1205	CytoTrack Red 628/643	632,640

より詳細は情報は以下の URL をご参照ください。
www.bio-rad.com/cfdase

Appendix

Appendix 1: Ordering Information

カタログ番号	製品名
ZOE™ 蛍光セルイメージャー	
145-0031J1	ZOE 蛍光セルイメージャー ＜構成内容＞ZOE 本体、パワーケーブル、USB メモリー
核染色試薬	
135-1303	PureBlu DAPI Nuclear Staining Dye(50 μ gバイアル x5 本)
135-1304	PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staing Dye (56 μ g バイアル x 5 本)
抗体ラベルキット	
135-1001	ReadiLink 350/440 KIT
135-1002	ReadiLink 492/516 KIT
135-1003	ReadiLink 555/570 KIT
135-1004	ReadiLink 594/610 KIT
固定化処理対応生存率アッセイ	
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay (200 回分)
135-1115	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay (200 回分)
135-1116	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay (200 回分)
135-1117	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay (200 回分)
細胞増殖アッセイ	
135-1201	CFDA-SE (5x100 μ g)

Appendix 2: 検出可能な蛍光物質例

検出可能な蛍光物質例

青色チャンネル Ex:355/40nm Em:433/36nm	緑色チャンネル Ex:480/17nm Em:517/23nm	赤色チャンネル Ex:556/20nm Em:615/61nm
Alexa Fluor 350 and 405 dye	Acridine Orange	Alexa Fluor 546, 568, 594 and 610 dye
Cascade Blue	Alexa Fluor 488 dye	Cy3
DAPI	BODIPY Fl	DsRed
Hoechst	eGFP	mCherry
Marina Blue	FITC	mStrawberry
PureBlu™ DAPI	MitoTracker Green FM	MitoTracker Red
PureBlu™ Hoechst 33342	YFP	mKate
ReadiLink 350/440 Antibody Labeling Kit	ReadiLink 492/516 Antibody Labeling Kit	RFP
VivaFix™ 353/442 Cell Viability Assay	VivaFix™ 498/521 Cell Viability Assay	Texas red
	CFDA-SE	ReadiLink 555/570 Antibody Labeling Kit
		ReadiLink 594/610 Antibody Labeling Kit
		VivaFix™ 547/573 Cell Viability Assay
		VivaFix™ 583/603 Cell Viability Assay

青字はバイオ・ラッド製試薬

Appendix 3: デジタルズームと保存画像サイズ

スケール表示（μm）	デジタルズーム	総合倍率（光学+デジタル）	保存画像解像度		総画素
100	1	175	2592	1944	5,038,848
95	1.1	184	2462	1847	4,547,560
90	1.1	194	2333	1750	4,081,467
85	1.2	206	2203	1652	3,640,568
80	1.3	219	2074	1555	3,224,863
75	1.3	233	1944	1458	2,834,352
70	1.4	250	1814	1361	2,469,036
65	1.5	269	1685	1264	2,128,913
60	1.7	292	1555	1166	1,813,985
55	1.8	318	1426	1069	1,524,252
50	2.0	350	1296	972	1,259,712
53	1.9	330	1374	1030	1,415,412
45	2.2	389	1166	875	1,020,367
40	2.5	438	1037	778	806,216
35	2.9	500	907	680	617,259
30	3.3	583	778	583	453,496
25	4	700	647	486	314,442

Appendix 4: 修理依頼書

修理依頼書にご記入(*は必ずご記入ください)の上、修理品に添付してお送りください。
(修理品 1 台につき 1 枚ご記入ください)

***依頼日　　年　　月　　日**

【*法人名(エンドユーザー様】	
【*ご住所】	
【*ご担当者様名】	【ご連絡先】 (TEL)

【*代理店様名】	
【*ご住所】	
【*ご連絡先】 (TEL)	【*ご担当者】

【*製品名】	【製造番号(S/N)】	【*付属品】
【*故障状況】		
【*修理条件】 □保証期間中修理です。(保証期間　　年　　月　　日) □作業前に見積は必要ありません。修理をお願い致します。 □修理金額(¥　　)以下の場合、見積りは必要ありません。修理をお願いします。 □作業前に見積が必要です。(故障箇所特定後の見積提出は、見積作業料を頂きます)		
【その他/備考欄】 【注意事項】 お客様よりお預かりします機器に対し、細心の注意を払い作業を行いますが、プロトコールやデータは、不可抗力で消失する場合や作業の都合上で消去せざるを得ない場合があります。お客様で作成されましたプロトコールやデータに関して、修理をご依頼される前に必ずバックアップを行なってください。それらに関しては復旧できない場合がございますので予めご了解ください。 尚、弊社にてプロトコールやデータのバックアップ、リストア作業のご依頼は承っておりません。		

【連絡先】	電話番号	Fax 番号
東京サービスセンター	03-6404-0330	03-6404-0332
大阪営業所	06-6308-6568	06-6308-3064
リペアセンター	03-6404-0381	03-6404-0332

修理品発送前に、発送先のご確認をお願い致します。

Appendix 5: デコンタミネーション確認のお願い

バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社に修理機器及び修理代替機、デモ機器を返送される場合、当該機器が生物学的有害物質（感染性物質）及び化学的有害物質の汚染がないことをご確認いただき、下記へご記入・ご署名の上、機器に添付してご送付ください。訪問対応の場合は、作業を行う前に弊社エンジニアへお渡しください。
弊社販売店様及び弊社従業員の安全を確保するためでございますので、ご理解とご協力をよろしくお願いいたします。
尚、安全の確認がとれない場合には、サービスの提供ができない場合がございますので予めご了承ください。

製品名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿　Serial No.（製造番号）：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

1. 上記装置は、感染性のあるサンプルを使用されましたか？
□ はい（感染性のある物質名：　　）　□いいえ
1-1. 上記で“はい”とご回答いただいた方へ、そのサンプルが接触した部分を安全が保たれる状態まで洗浄されましたか？
□ はい　□いいえ
1-2. 上記 1-1 で“ はい ”とご回答いただいた方へ、具体的にどのような方法で洗浄されましたか？

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

2. 上記装置は、有害な化学物質または放射性物質のサンプルを使用されましたか？
□ はい（危険性のある物質名：　　）　□いいえ
2-1. 上記で“はい”とご回答いただいた方へ、そのサンプルが接触した部分を安全が保たれる状態まで洗浄、除染されましたか？
□ はい　□いいえ
2-2. 上記 2-1 で“ はい ”とご回答いただいた方へ、具体的にどのような方法で洗浄、除染されましたか？

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

デコンタミネーション確認書

上記の装置を人体及び環境の安全を保つため、人体への感染や危険が無い状態であることを確認し、バイオ・ラッド ラボラトリーズ社員または、代理人へ作業を依頼したことを承認します。

ご記入日：　　年　　月　　日　　ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

会社(団体)名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿　ご職位：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

電話番号：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＊ご署名は、実際に当該装置をご使用し、安全を確保していただいた方にお願いいたします。

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
ライフサイエンス事業部

Visit us at http://www.bio-rad.com

本社　〒140-0002　東京都品川区東品川 2-2-24　Tel : 03-6361-7000　Fax : 03-5463-8480

大阪　〒532-0025　大阪市淀川区新北野 1-14-11　Tel : 06-6308-6568　Fax : 06-6308-3064

福岡　〒812-0013　福岡市博多区博多駅東 2-5-28　Tel : 092-475-4856　Fax : 092-474-5580

製品の学術的なお問い合わせは

Mail : life_ps_jp@bio-rad.com　Tel : 03-6404-0331　Fax : 03-6404-0334

MNL1450031　M10663 1504B